



**EVOLUCIÓN DE LA
CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS
POR TRATAMIENTOS
EMERGENTES RELACIONADOS
CON ELECTRICIDAD**

**DECOLORACIÓN DE ÍNDIGO
USANDO EXTRACTOS
VEGETALES**

**CONTROL BIOLÓGICO DE
PLAGAS PARA CULTIVOS DE
IMPORTANCIA AGRONÓMICA**

**HYDROXYNITRILE LYASE
ACTIVITY OF *PRUNUS SEROTINA***



Directorio Institucional

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

PRIMO ALBERTO CALVA CHAVARRÍA
Secretario de Gestión Estratégica

FRANCISCO JAVIER ANAYA TORRES
Secretario de Administración

EMMANUEL ALEJANDRO MERCHÁN CRUZ
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

CIBA IPN

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

ABDU ORDUÑA DÍAZ
Subdirector de Innovación Tecnológica
del CIBA IPN Tlaxcala

DAVID GUILLERMO PÉREZ ISHIWARA
Miembro Fundador de Frontera Biotecnológica

MARTHA BIBBINS MARTINEZ
Editor en Jefe

GONZALO PÉREZ ARAIZA
Soporte Técnico

PEDRO RAMÍREZ CALVA
Diseño y Diagramación Frontera Biotecnológica

ISMAEL SÁNCHEZ GONZÁLEZ
Desarrollo Web

CONTENIDO

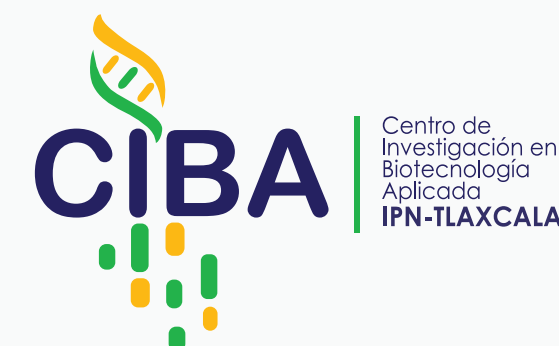
MENSAJE EDITORIAL 3

EVOLUCIÓN DE LA CONSERVACIÓN
DE ALIMENTOS POR TRATAMIENTOS
EMERGENTES RELACIONADOS CON
ELECTRICIDAD 4

DECOLORACIÓN DE ÍNDIGO USANDO
EXTRACTOS VEGETALES 10

CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS
PARA CULTIVOS DE IMPORTANCIA
AGRONÓMICA 15

HYDROXYNITRILE LYASE ACTIVITY OF
PRUNUS SEROTINA 21



CINTILLO LEGAL

FRONTERA BIOTECNOLÓGICA, año 5, número 7, mayo - agosto 2017, 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, ISSN: 2448-8461, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor (INDAUTOR). 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, 16 de agosto de 2017.

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.

MENSAJE EDITORIAL

Agosto del 2017

Estimados lectores,

En esta edición de **FRONTERA BIOTECNOLÓGICA**, encontrarán cuatro interesantes artículos.

El primer artículo que se titula; **“EVOLUCIÓN DE LA CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS POR TRATAMIENTOS EMERGENTES RELACIONADOS CON ELECTRICIDAD”**, aborda la evolución de tecnologías basadas en la interacción entre la materia y la energía eléctrica (tecnologías no térmicas), especialmente EL CAMPO ELÉCTRICO, y su importancia para preservar alimentos, no sólo aumentando su vida de anaquel, sino, manteniendo sus propiedades nutricionales. Los autores resaltan la importancia de las tecnologías emergentes, en la industria de alimentos y hacen un recorrido muy interesante sobre la evolución de este tipo de tecnologías.

En el segundo artículo, **“DECOLORACIÓN DE INDIGO USANDO EXTRACTOS VEGETALES”**, se presenta la investigación realizada para evaluar extractos de diferentes vegetales como fuentes de ENZIMAS OXIDASAS para la decoloración del colorante textil, índigo carmín. La industria textil consume millones de litros de agua, generando efluentes que entre otros componentes, contienen grandes cantidades de colorantes o tintes. El tratamiento de dichas aguas suele ser costoso y con generación de subproductos que deterioran estéticamente los cuerpos de agua y causan daños a la flora y fauna. Muchas enzimas oxidasas como las peroxidasas y las polifenoloxidasas obtenidas de bacterias, hongos e incluso plantas han sido usadas para decolorar de manera eficiente, tintes textiles. En esta investigación los autores demuestran que los vegetales estudiados presentaron oxidasas con capacidad de oxidar el índigo carmín y concluyen que este tipo de extractos representa una alternativa económica y amigable con el ambiente, para la biorremediación de efluentes de la industria textil.

El tercer artículo se titula, **“CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS PARA CULTIVOS DE IMPORTANCIA AGRONÓMICA”**. El control biológico se puede definir como el uso de organismos vivos para el control de plagas, enfermedades y malezas. Como una estrategia en el MANEJO INTEGRADO de plagas en un cultivo, el control biológico tiene como principal objetivo, el control o regulación de la población del organismo problema, evitando con esto pérdidas por encima del umbral económico en el cultivo de interés. Aunado a lo anterior, con el control biológico se pueden evitar daños a la salud de las personas o animales y desde luego, al medio ambiente, al no aplicarse plaguicidas químicos. Todo esto contribuye al acceso y mantenimiento de mercados internacionales, para los agricultores relacionados con la agricultura orgánica.

En este artículo, los autores nos resaltan la importancia del CONTROL BIOLÓGICO en el control de plagas de cultivos de importancia agronómica, y nos describen las principales estrategias de control biológico, así como los organismos que se han empleado para la evaluación, desarrollo e implementación de dichas estrategias.

Finalmente en el cuarto artículo titulado, **“HYDROXYNITRILE LYASE ACTIVITY OF *Prunus serotina*”**, los autores nos exponen el trabajo de investigación realizado para la obtención de extractos con actividad de HIDROXINITRILIO LIASA a partir de la semilla producida por el árbol *Prunus serotina*, de nombre común capulín. La enzima hidroxinitrilo liasa ha sido ampliamente estudiada en la síntesis de cianohidrinas quirales las cuales son importantes precursores industriales de los ácidos carboxílicos y algunos aminoácidos. En este trabajo se estudió las propiedades biocatalíticas de dichos extractos para la adición de HCN (ácido cianhídrico) al 2-cloro benzaldehído, concluyéndose que las semillas son una fuente económica de este tipo de enzimas.

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

EVOLUCIÓN DE LA CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS POR TRATAMIENTOS EMERGENTES RELACIONADOS CON ELECTRICIDAD

Dra. María Reyna Robles López y Dr. Raúl René Robles de la Torre
Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada - Instituto Politécnico Nacional
mreynarobles@yahoo.com, rrenedlt@yahoo.com

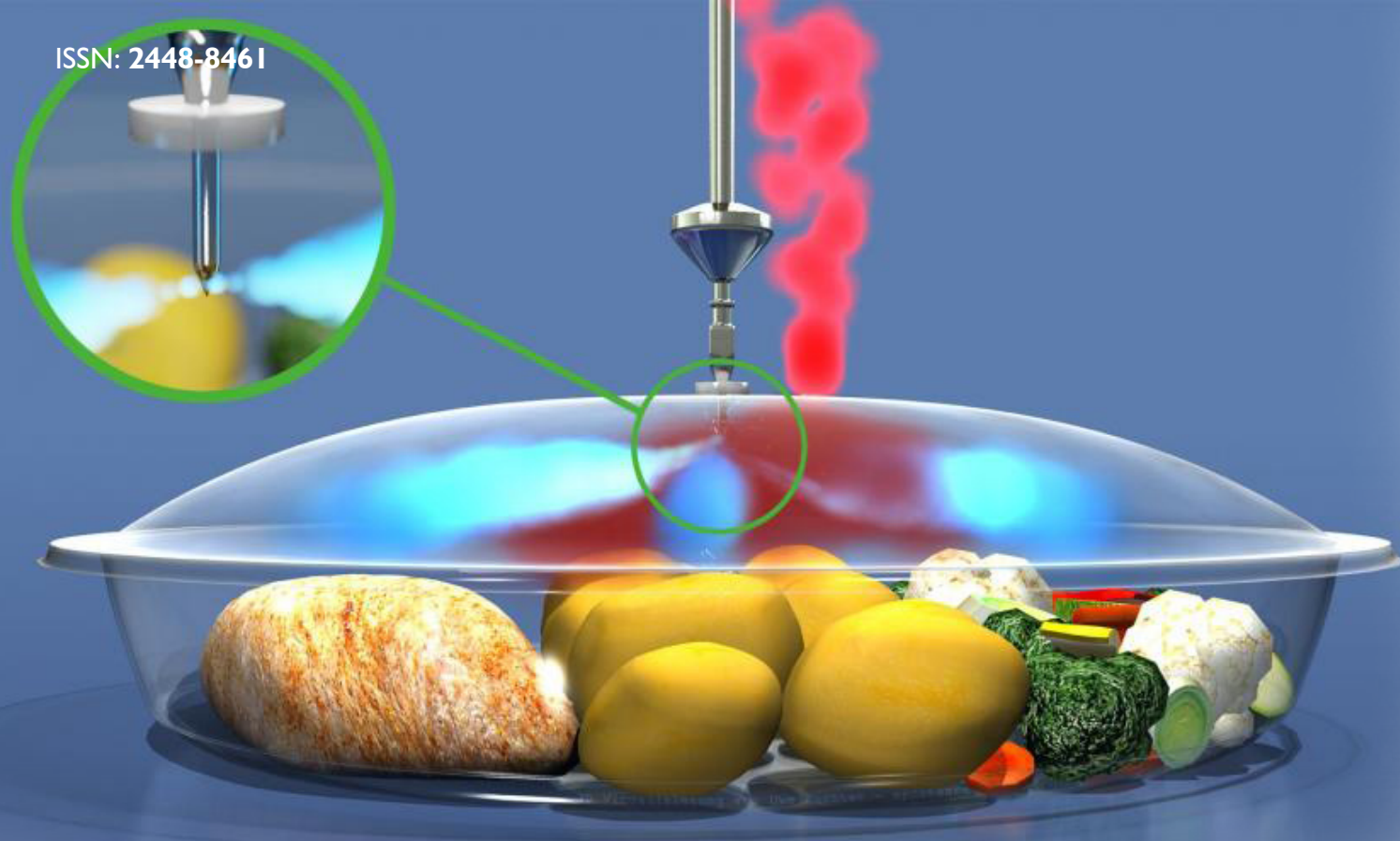


Foto tomada de:
<https://www.packworld.com/sites/default/files/styles/lightbox/public/field/image/News-Micropast.jpg>

RESUMEN

La necesidad de conservar alimentos ha sido tema prioritario desde la antigüedad, surgiendo tecnologías como el secado y salado; siglos después aparecen las tecnologías térmicas, y muy recientemente, las tecnologías basadas en otras fuentes de energía denominadas: Tecnologías NO térmicas, o tecnologías emergentes. En el presente trabajo se describe la evolución de las tecnologías basadas en la interacción entre la materia y la energía eléctrica, especialmente el campo eléctrico, cuya aplicación ha mostrado cambios importantes para la conservación de alimentos, permitiendo prolongar su vida útil o mejorar algunas de sus características, pero cuidando al mismo tiempo los efectos detrimentales causados por la energía térmica. Se concluye que el uso del campo eléctrico presenta amplias expectativas en la industria alimentaria, razón por la que en el CIBA-IPN se ha implementado como un tema de investigación en área de Biotecnología alimentaria.

ABSTRACT

The need to preserve food has been priority since antiquity, since then, technologies such as drying and salting were developed; centuries later appear thermal technologies, and most recently, technologies based on other sources of energy, called: Non-thermal technologies, or emerging technologies. This paper describes the evolution of technologies based on the interaction between food and electricity, especially the electric field, whose application has shown significant changes in food preservation, allowing us to extend their self-life or improving certain characteristics, but taking care at the same time of the detrimental effects caused by thermal energy. It is concluded that the use of the electric field has expectations in the food industry, reasons why at CIBA-IPN this subject has been implemented as a subject of research in the area of food biotechnology.

Key words: Emerging technologies, Food preservation, Electric Field.

I. INTRODUCCIÓN

Una de las principales preocupaciones de la humanidad es la seguridad alimentaria, desde la prehistoria se tienen evidencias de la búsqueda de alimentos y los primeros indicios de técnicas para conservarlos. La historia nos enseña que el hombre con el paso del tiempo ha desarrollado desde operaciones sencillas como el secado al sol hasta operaciones complejas como la esterilización de alimentos en recipientes herméticamente cerrados; a través de los años estos métodos se han convertido de procesos empíricos a tecnologías que se han ido adaptando a diferentes productos con la finalidad de prolongar la vida útil de los alimentos, optimizar costos, y calidad de los productos finales.



Foto tomada de: http://www.drmarcial.com/wp-content/uploads/2015/01/secado_comida.jpg

No obstante, conforme avanzan los conocimientos científicos, va surgiendo información sobre los cambios tanto funcionales, de calidad, de conservación o de seguridad alimentaria que provocan algunos tratamientos, ejemplo de ello son algunos aditivos que se han empleado desde principios del siglo XX y ahora han quedado prohibidos, porque su presencia provocó enfermedades en el consumidor, algunos colorantes artificiales que se usaron para enmascarar defectos, se ha demostrado que pueden ser carcinogénicos, como es el caso de los amarillos 1, 2G, la Tartrazina; los verdes 1 y 2; los rojos 1, 2G y 3; el azul 5 entre otros (Hanssen, 1987).

Los hallazgos encontrados en el camino de la seguridad alimentaria, han hecho que se realicen investigaciones en muchos aspectos. Uno de ellos es el relacionado con encontrar alternativas energéticas que permitan la conservación de alimentos, sin que dañen las características nutritivas y sensoriales, y además que sean consideradas tecnologías limpias o hagan un uso más eficiente de la energía. Las tecnologías más estudiadas en la actualidad se basan en el empleo de sistemas de destrucción o inactivación bacteriana sin necesidad de emplear un tratamiento térmico, como la Alta Presión Hidrostática y el Campo Eléctrico

Pulsado, el Ultrasonido, la Radiofrecuencia, la Ionización, la Luz Blanca de Alta Intensidad, entre otras, algunas de ellas provocan ligeros incrementos en la temperatura que hace necesario el uso de intercambiadores de calor para permitir una temperatura constante durante los procesos (Butz y Tauscher 2002).

2. DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS DE CONSERVACIÓN CON INTERACCIÓN ALIMENTO Y ENERGÍA ELÉCTRICA

La búsqueda de métodos de destrucción de microorganismos sin usar calor, no es en realidad algo nuevo, ya que existe información que data desde 1897, donde se describe una patente de un equipo para dar tratamiento eléctrico a fluidos, este tratamiento es conocido como Tratamiento Óhmico, esta tecnología fue aplicada hasta 1930 para producir el primer producto comercial de leche pasteurizada, esta tecnología se basó en el efecto provocado por el calentamiento producido al hacer pasar una corriente eléctrica a través de la leche, el calentamiento es generado de manera interna en el alimento por la resistencia que éste oponga al paso de la corriente eléctrica, la pasteurización ocurre porque se generan reacciones electroquímicas e incremento de temperatura que desnaturaliza a los microorganismos termolábiles sin lograr una esterilización; este equipo entró en desuso en los años 50's cuando surgieron los equipos de pasteurización que hacían más económico, rápido y seguro el tratamiento. (Filiz-líer et al, 2008)

A partir de 1980 el instituto Electrical Council Research en Caenhurts (UK), registró una patente de un equipo con capacidad industrial para tratamiento Óhmico continuo; en 1993 la FDA, (de sus siglas en inglés Food and Drug Administration), aprobó su uso como un proceso para estabilizar alimentos de baja acidez, desde entonces se usa comercialmente en Japón, EE. UU. y Europa, y se continúa realizando investigaciones para mejorar su capacidad y encontrar nuevas aplicaciones, ya que es una de las tecnologías donde la pérdida de energía es mínima, por lo que se considera una de las tecnologías más eficientes en cuanto al uso de la energía eléctrica. En la Figura 1, se muestra un equipo diseñado y distribuido en México. (Goullieux and Jean-Pierre, 2005)





Figura 1. Equipo de tratamiento Óhmico vendido en México. Derechos Reservado Alimentos Profusa 2013.

El incremento en la demanda de productos mínimamente procesados por los consumidores que cada vez están más informados sobre los alimentos procesados, ha hecho que se busquen nuevas metodologías, donde el daño provocado por la generación de calor sea mínima y así lograr satisfacer el mercado; con base a esta premisa el Dr. Doevenspeck en 1960 utilizó un equipo de Campo Eléctrico Pulsado (CEP), donde la corriente fluye solo en pequeñas descargas eléctricas en cortos periodos de tiempo, que podían causar la destrucción de microorganismos.

Los doctores Sale y Hamilton en 1967, realizaron los primeros experimentos sistemáticos con **Campo Eléctrico Pulsado** (CEP), y encontraron que los factores de mayor importancia en estos tratamientos era el número de pulsos y el tiempo de aplicación. Propusieron que el daño provocado por las descargas eléctricas causaba daño en la membrana de las células bacterianas provocando la salida citoplasmática, y este era la causa de su muerte. (Hamilton and Sale, 1967). Basados en estos avances el grupo de investigación dirigido por el Dr. Zitzmann y Münch en 1988, en Krupp Maschinenteknik GmbH de Alemania, desarrollaron dos equipos "Elcrack" para desintegrar productos de desecho de carne o pescado y "Elsteril" para descontaminar fluidos. (Töpfl, 2006)

A partir de la década de los 70's se iniciaron una serie de trabajos de investigación dando lugar a una de las tecnologías emergentes más estudiadas a nivel mundial con diferentes aplicaciones, una de las primeras aplicaciones con este novedoso método fue la introducción de material genético de diferentes fuentes a través de los poros formados por la aplicación del CEP, llamándole técnica de electroporación, actualmente de uso generalizado para el intercambio de material genético a nivel celular.

En el campo de la conservación de alimentos partir de 1995, se formaron alrededor de 20 grupos de investigación en el mundo, con equipos similares en cuanto al principio

físico aplicado, pero con un número tan grande de variables entre ellos que al a fecha es difícil realizar comparaciones basándose en los resultados obtenidos por un grupo para replicarlos en otro equipo. Las investigaciones versaron desde tipos de alimentos a tratar, el diseño general de los equipos, algunos enfocados a la disminución de carga microbiana, otros a la inactivación enzimática, otros sobre la evaluación de cambios organolépticos, inducción de estrés para la producción de metabolitos secundarios en células, etc. Esta tecnología se aplica a la fecha sin que aun este totalmente claro el mecanismo de acción a nivel celular ya que la formación de los poros en la pared celular puede ocurrir en fracciones de segundo y puede ser reversible, en la Figura 2 se muestra el esquema de un equipo de Campo Eléctrico Pulsado.

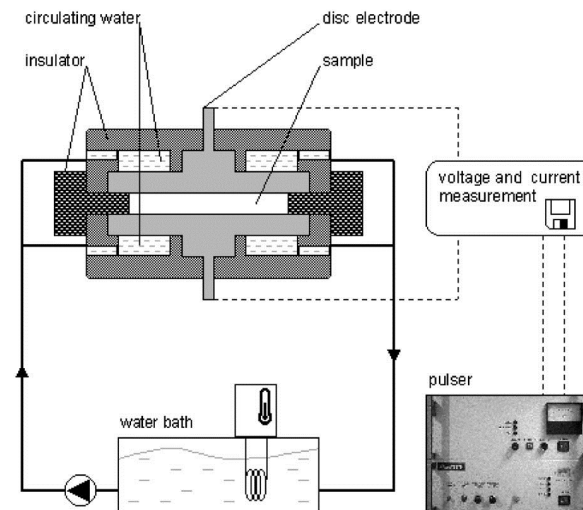


Figura 2. Diagrama de una celda de tratamiento de CEP combinado con intercambiador de calor usado en la inactivación de *E. coli*. Tomada de Bazhal et al. (2006)

Se han patentado y comercializados equipos a nivel piloto y/o nivel industrial diseñados por diferentes grupos de investigación, los más importantes han sido el de la Universidad de Ohio; otro, el que un grupo de ingenieros de Krupp Maschinenteknik en Hamburgo Alemania, patentaron, denominado ELCRACK para tratamientos de conservación de vegetales y células animales y el equipo ELSTERIL, para la pasteurización de jugos y leche; uno más, el de PurePulse Technologies, patentado por los laboratorios Maxwell de San Diego California EE.UU., propuesto para alimentos fluidos en sistema de lotes y continuos, con el inconveniente de que en los productos se incrementaba la temperatura considerablemente. En la Universidad del Estado de Washington (WSU), diseñaron un sistema de CEP con diferentes arreglos de los electrodos (en paralelo y coaxiales) y con control de temperatura de los productos tratados obteniendo mejores resultados. Algunos de estos equipos se descontinuaron por los altos costos de venta e instalación. (Góngora-Nieto, et al., 2002)

En 1992 los japoneses Aibara y col. publicaron una comunicación acerca de la aplicación del campo eléctrico de alto voltaje sobre masa de trigo para modificar las propiedades de panificación. En la Figura 3 se muestra el primer equipo de campo eléctrico.

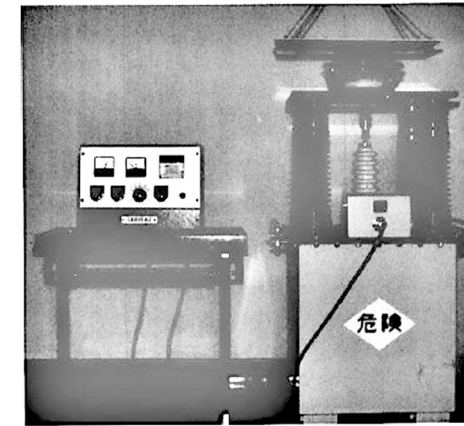


Fig. 2. High-voltage electric field (HVEF) treatment of wheat flour dough by an HVEF-generator.

Vol. 69, No. 4, 1992 465

Figura 3. Equipo de CE de alto voltaje usado por Aibara y colaboradores.

Sin embargo es a partir del año 2000 que se inicia la investigación sistemática sobre el uso y aplicaciones del campo eléctrico (CE), haciendo énfasis en que es un campo eléctrico no pulsado, es decir sin el flujo de corriente por el alimento. Con este nuevo sistema también se ha demostrado que es posible desestabilizar proteínas causando disminución o aumento de la actividad enzimática, o inactivación de microorganismos, por lo que puede ser una alternativa como método de conservación no térmica de alimentos, además se destaca que este tipo de tratamientos, no provoca incremento de temperatura. (Aibara et al., 1992, Butz 2002, Castorena et al.; 2013)

Con esta tecnología se hace un uso más eficiente de la energía empleada para alargar la vida útil de los alimentos, ya que se genera un campo de fuerza entre los electrodos en uno de los cuales se coloca el alimento a tratar, al no ser necesario el contacto físico con los electrodos, éstos se pueden separar la distancia necesaria para tener diferentes intensidades del campo, tratando de evitar siempre la aparición del arco eléctrico.

En los sistemas de formación de campo eléctrico, uno de los electrodos se carga con un alto voltaje, de tal manera que si el voltaje se incrementa y los electrodos se acercan puede ocurrir un fenómeno denominado arco eléctrico o un salto de corriente eléctrica de un electrodo a otro. El campo eléctrico se forma entre

los dos electrodos, en medio de los cuales se coloca la muestra o producto a tratar, ejemplo de este sistema se puede observar en la Figura 4.

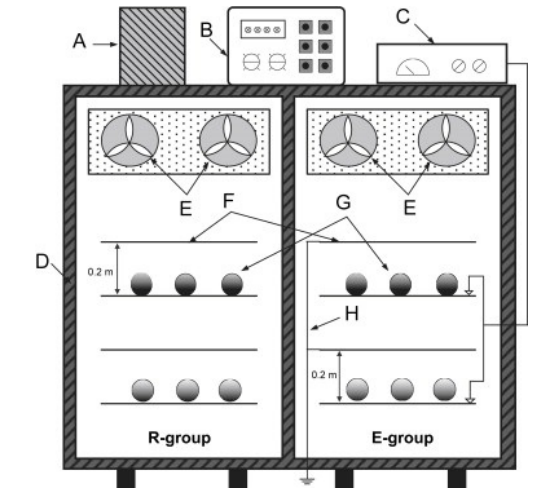


Figura 4. Diagrama de un equipo de CE con sistema de enfriamiento usado por Chang-Wei para tratar jugo de zanahoria en 2008.

En los últimos años, el CE se ha utilizado para muchas aplicaciones, como el secado de alimentos, bajo el nombre de Secado Electrodinámico (Dalvand et al., 2012, Cao et al., 2004), conservación de la frescura de productos vegetales, (Bajgai et al., 2006), para mantener la calidad pos cosecha de algunas frutas rojas, (Yu Wang et al 2008, Palanimuthu et al., 2009; Xiangli He et al., 2014).

También se ha usado para evitar los efectos nocivos del calor sobre sabor, color y valor nutritivo de los alimentos con un mínimo de pérdida de agua, se ha demostrado el ahorro de energía; por lo tanto, algunos otros resultados obtenidos por otras instituciones es que han demostrado que se disminuye hasta 6 fases log con 40,00 kV/m, se ha utilizado con éxito en la extracción de bio-componentes. (Palanimuthu et al, 2009, Mohammad et al, 2014, Dalvi 2016)

Desde hace más de 10 años el grupo de investigación sobre aplicaciones del campo eléctrico, diseño y construyó un equipo generador de campo eléctrico (Equipo CE-CIBA-IPN, derivado de un proyecto FOMIX), con el cual se ha trabajado desde entonces y se ha demostrado que esta tecnología tiene capacidad de disminuir cargas microbianas en caldo de cultivo, que bajo algunas condiciones de trabajo es posible desestabilizar algunas estructuras de proteínas, y que este efecto puede hacer que algunas de las propiedades funcionales de las proteínas se vean alteradas, también en el caso de enzimas se observó que el efecto puede lograr que la actividad enzimática aumente o disminuya

dependiendo de las condiciones de tratamiento. Con tratamientos de hasta 30 minutos no observó destrucción del β -caroteno y α Tocoferol, ni la formación de ácidos grasos trans durante el tratamiento para disminuir la actividad de polifenoloxidasas en aguacate; en otro estudio se observó que la actividad residual de papaína fue menor al 50% con tratamientos de 30 min. (Castorena 2009, Ariza 2010, Méndez 2010, Meza 2016). En otros trabajos no publicados, se ha logrado prolongar la vida de anaquel del jitomate hasta por 30 días sin el uso de refrigeración, y se ha logrado mejorar la extracción de biomoléculas, lo que se conoce como una extracción asistida, en la que se mejora el rendimiento. Lo más importante de todo ello es que ocurre sin aplicación de calor.

Al ser una tecnología nueva, se hace necesario realizar más investigaciones para estar en posibilidad de diseñar un equipo continuo y proponer un escalamiento a niveles productivos más importantes para la industria biotecnológica, farmacéutica, alimentaria, en general en todos los bio-procesos. Actualmente el campo eléctrico es visto como una tecnología emergente con grandes expectativas para ser usada en un futuro no lejano en toda la industria biotecnológica. En el siguiente link: https://youtu.be/_g9y4YUozjU se podrá ver el equipo del campo eléctrico del CIBA-IPN funcionando, se podrá observar el efecto del campo de fuerzas sobre pedazos de papel, también se podrá observar la formación del arco eléctrico, como si fueran descargas o pulsos de corriente que se forman al incrementar la intensidad del campo.

3. CONCLUSIONES

La aplicación del campo eléctrico con fines de conservación de alimentos tiene amplias perspectivas por la ausencia de incremento de temperatura durante el tratamiento y por el ahorro de energía, además se tiene la posibilidad de llevarlo a un proceso continuo.

Es necesario realizar aún mucho trabajo de investigación que permita esclarecer los puntos donde actúa este campo de fuerzas a nivel molecular para comprender mejor el fenómeno y poder ampliar su uso de manera apropiada.

4. AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo de FOMIX-Michoacán así como los apoyos del IPN para la realización del diseño y construcción del equipo de CE y de las diversas investigaciones que se han desarrollado con este equipo.

5. REFERENCIAS

Aibara S., Hisaki K. and Watanabe K., (1992). Effects of High-Voltage High Electric Field Treatment on Wheat Dough and Bread-Making Properties. *Comminication ti the Editor, Cereal Chemistry*. 69 (4): 465-467.

Ariza, J. A., (2010). Estudio del efecto del campo eléctrico sobre la isomería de los ácidos grasos del aguacate. Tesis doctoral. CIBA-IPN.

Bajgai, T.R., Hashinaga, F., Osobe, S., Raghavan, G.S.V., and Ngadi M.O. 2006. "Application of high electric field. (HEF) on the shelf-life extension of emblic fruit (*Phyllanthi emebelica L.*)". *Journal of Food Engineering*, 74: 308-313.

Butz, P., Tauscher B. 2002. "Emerging technologies: chemical aspects". *Food Research International*. 35: 279-284.

Castorena G. H., Martínez M. F.J., Robles L. M.R., Welti-Chanes J. S., Hernández S. H., and Robles dl T. R.R. 2013. "Efecto de los Campos Eléctricos sobre la Actividad de las Polifenol Oxidasas. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. (12)3: 391-400.

Castorena García H. 2009. Estudio del efecto del campo eléctrico sobre la actividad de la polifenol oxidasa del aguacate con fines de conservación. Tesis doctoral. CIBA-IPN.

Chang-Wei Hsieh, Wen-Ching Ko. 2008. "Effect of high-voltage electrostatic field on quality of carrot juice during refrigeration". *Food Science Technology*. 41: 1752-1757.

Dalvand, M.J., Mohtasebi S.S. and Rafiee S. 2012. "Effect of Needle Number on Drying Rate of Kiwi Fruit in EHD Drying Process". *International Journal of Multidisciplinary Sciences and Engineering*, 3(5): 66-69.

Dalvi -Isfahana Mohsen, Hamdami Nasser. 2016. "The principles of high voltage electric field and its application in food processing: A review". *Food Research International*.(89) : 48-62. <http://dx.doi.org/10.1016/j.compchemeng.2016.11.044>.

Filiz-lier, Hasan Yildiz, Taner Baysal. 2008. "Polyphenoloxidase deactivation kinetics during ohmic heating of grape juice". *Journal of Food Engineering* 85, 410-417.

Góngora-Nieto M. M., Sepúlveda D. R., Pedrow P., Barbosa-Cánovas G. V., Swanson B. G. 2002. "Food Processing by Pulsed Electric Fields: Treatment Delivery, Inactivation Level, and Regulatory Aspects". *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie*, 35 (5): 375-388.

Goullieux Adeline and Jean-Pierre Pain. 2005. "Ohmic Heating. Emerging Technologies for Food Processing". Edited by Da-Wen Sun. Academic Press. ISBN 0126767572. 469-505.

Hamilton W.A. and Sale J.H. 1967. "Effects of high electric fields on microorganism. II. Mechanism of action of the lethal effect". *Biochimica et Biophysica Acta*. 789-800.

Hanssen Maurice and Marsden Jill. 1987. "E for additives". Ed Harper Collins Publishers. Great Britain. 7-49.

Méndez Ramos M.G. 2010. "Estudio del Efecto del Campo Eléctrico sobre las Vitaminas C, E y A del Aguacate". Tesis Maestría. CIBA-IPN.

Meza-Jiménez María de Lourdes. 2016. "Efecto Del Campo Electrico sobre sa Actividad y Estructura de la Papaína". Tesis Doctorado ENCB-IPN.

Mohammad Jafar Dalvand, Seyed Saeid Mohtasebi & Shahin Rafiee. 20014. "Modeling of electrohydrodynamic drying process using response surface methodology". *Food Science & Nutrition*. (3): 200- 209

Palanimuthu V., P. Rajkumar, V. Orsat, Y. Gariépy, G.S.V. Raghavan. 2009. "Improving cranberry shelf-life using high voltage electric field treatment". *Journal of Food Engineering* 90, 365-371.

Töpfl, Stefan. 2006. "Pulsed Electric Fields (PEF) for Permeabilization of Cell Membranes in Food- and Bioprocessing – Applications". *Process and Equipment Design and Cost Analysis*. Doctoral Thesis, Technische Universität Berlin, Fakultät III - Prozesswissenschaften

Xiangli He, Rui Liu, Eizo Tatsumi, Satoru Nirasawa, Haijie Liu. 2014. "Factors affecting the thawing characteristics and energy consumption of frozen pork tenderloin meat using high-voltage electrostatic field". *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. (22) 110-115.

Yu Wang, Baogang Wang and Lite Li. 2008. "Keeping quality of tomato fruit by high electrostatic field pretreatment during storage". *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88:464-470.

DECOLORACIÓN DE ÍNDIGO USANDO EXTRACTOS VEGETALES

Daniela Sánchez Gálvez, Aida Solís Oba, Herminia I. Pérez, Norberto Manjarrez
Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco
asolis@correo.xoc.uam.mx

RESUMEN

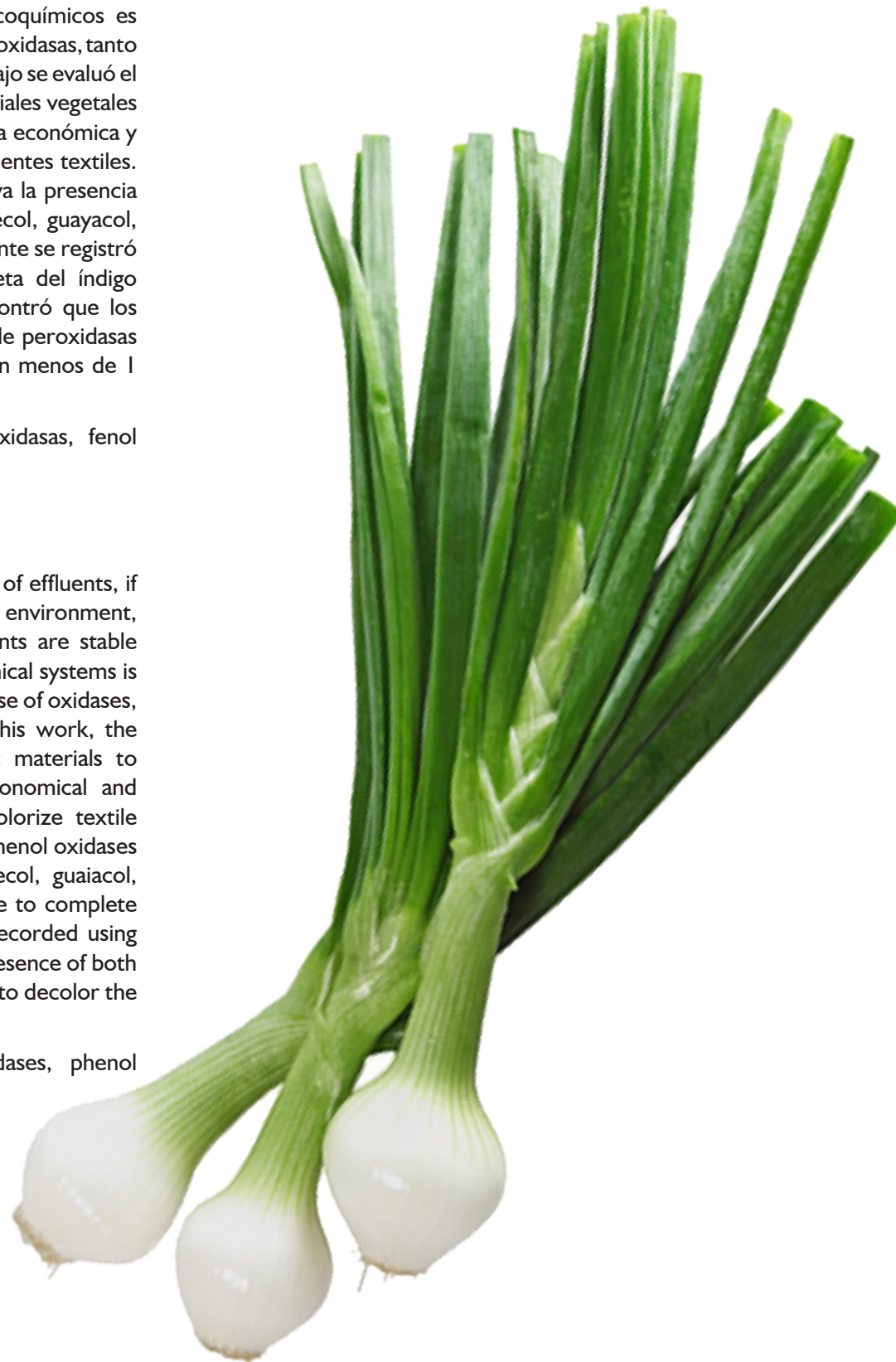
La industria textil genera cantidades importantes de efluentes, si estos contienen colorantes, afectan de manera importante al medio ambiente, ya que los colorantes pueden ser carcinogénicos. Los colorantes son moléculas estables, por lo que su tratamiento en sistemas fisicoquímicos es complejo y costoso; una alternativa es el uso de oxidasas, tanto peroxidadas como fenol oxidasas. En este trabajo se evaluó el uso de extractos acuosos de diferentes materiales vegetales para decolorar el índigo, como una alternativa económica y amigable con el ambiente para decolorar efluentes textiles. Primeramente se evaluó de manera cualitativa la presencia de peroxidadas y fenol oxidasas usando catecol, guayacol, ácido caféico y ácido pirogálico), posteriormente se registró el tiempo para lograr decoloración completa del índigo (100 mM) usando dichos extractos. Se encontró que los extractos que mostraron la presencia tanto de peroxidadas como fenol oxidasas decoloraron al índigo en menos de 1 hora.

Palabras clave: Decoloración, índigo, peroxidadas, fenol oxidasas

ABSTRACT

The textile industry generates large amounts of effluents, if they contain dyes, they significantly affect the environment, since the dyes can be carcinogenic. Colorants are stable molecules, so their treatment in physicochemical systems is complex and expensive; an alternative is the use of oxidases, both peroxidases and phenol oxidases. In this work, the use of aqueous extracts of different plant materials to decolorize indigo was evaluated as an economical and environmentally friendly alternative to decolorize textile effluents. The presence of peroxidases and phenol oxidases were first qualitatively evaluated using catechol, guaiacol, caffeic acid and pyrogallol acid), and the time to complete indigo discoloration (100 ppm) was then recorded using these extracts. Extracts which showed the presence of both peroxidases and phenol oxidases were found to decolor the indigo in less than 1 hour.

Key words: discoloration, indigo, peroxidases, phenol oxidases



I. INTRODUCCIÓN

La industria textil consume millones de litros de agua al año en sus procesos de teñido, existen aproximadamente 10,000 diferentes tipos de colorantes y pigmentos usados en la industria textil, representando estos un consumo anual de 7X10⁵ toneladas alrededor del mundo. El tratamiento de dichas aguas suele ser costoso y con generación de subproductos que deterioran estéticamente los cuerpos de agua y causan daños a la flora y fauna, por lo que el tratamiento de aguas residuales y su recuperación es obligatoria (Pramparo, 2008)

La presencia de color en los colorantes se debe a los grupos cromóforos, los colorantes se definen como compuestos aromáticos con grupos funcionales que tienen la capacidad de deslocalizar electrones y absorber radiación electromagnética de distintas longitudes de onda dependiendo de la energía de las nubes electrónicas (Quintero and Cardona, 2010). En la actualidad los colorantes con grupos azóicos (R-N=N-R') son los más empleados en la industria textil.

El tratamiento de agua residual textil es uno de los más complejos, ya que muchos tintes son estables y pueden permanecer en el ambiente por largo tiempo, además algunos subproductos y tintes son carcinógenos y mutagénicos, deterioran estéticamente los cuerpos de agua, causan un gran impacto en la flora y fauna, causan fluctuaciones en parámetros como demanda química de oxígeno (DQO) y demanda bioquímica de oxígeno (DBO), pH, color y composición de las aguas residuales (la cual depende de todas las sustancias químicas que implican el teñido y la preparación de la prenda) lo cual ha desarrollado costosos métodos efectivos de limpieza (Campos et al., 2001).

El agua residual contaminada con colorantes se puede tratar con métodos entre los cuales se encuentran los químicos, los físicos, los biológicos y los combinados como la floculación, floculación con flotación, electrofloculación, filtración por membranas, coagulación electrocinética, destrucción electroquímica, intercambio de iones, irradiación, precipitación, ozonización y método Katox, que incluye carbón activado y aire.. Los tratamientos biológicos son reconocidos por sus bajos costos, viabilidad para el tratamiento de efluentes y su capacidad para reducir DQO y DBO, de esta manera se mejora la calidad del agua tratada de los diferentes efluentes, evitando consecuencias en la flora y fauna (Quintero et al, 2010).

El enfoque general de la biorremediación es mejorar la capacidad de los microorganismos nativos para degradar los contaminantes, como es para llevar a cabo decoloraciones de efluentes textiles (Rajeswari et.al., 2011). Se pueden emplear diversos microorganismos, los más comunes son los microorganismos como algas, bacterias y hongos y en menor proporción las plantas en procesos llamados fitoremediación. Esta remoción de contaminantes se

hace en gran medida gracias a las enzimas, las cuales son catalizadores biológicos que reducen la energía de activación de las reacciones y aceleran las mismas. Las enzimas de las plantas se usan para degradar contaminantes orgánicos e inorgánicos y realizar biotransformaciones, además como biocatalizadores muestran una alta tolerancia de sustratos además de ser compatibles con otras enzimas (Tortora, 2007). Muchas enzimas oxidativas como las peroxidadas y las polifenoloxidasas obtenidas de bacterias, hongos e incluso plantas han sido usadas para decolorar de manera eficiente, tintes textiles como el índigo carmín utilizado mayormente en la industria de la mezclilla para teñir los pantalones azules, además de emplearse en pequeñas cantidades para teñir seda y lana.

Dentro de las seis clases principales de enzimas, se encuentran las oxidoreductasas que como su nombre lo dice, llevan a cabo reacciones de oxidación y reducción. Una clase de oxidoreductasas es la peroxidasa, cuya función es convertir el peróxido de hidrógeno producido en ciertas reacciones metabólicas en agua y oxígeno. Esta enzima se encuentra en animales, hongos, bacterias y plantas. La Comisión Científica de la Unión Europea definió a las peroxidadas como una de las proteínas con mayor interés biotecnológico del siglo XXI por su aplicación en la conservación del ambiente (Gil et al., 2011).

La peroxidasa es una enzima que puede catalizar la oxidación de ciertos compuestos donadores de hidrógeno, como fenoles (guayacol, pirogalol) y aminas aromáticas (o-fenilendiamina) por medio de peróxido (H₂O₂). El sustrato oxidable de esta enzima más usado es el guayacol, el cual es oxidado a un complejo de tetraguayacol (Hiraga, 2001)

La enzima catecolasa contenida en algunas frutas y vegetales, es la causante de que frutas golpeadas o magulladas, se tornen cafés cuando son expuestas al aire, debido a que la catecolasa facilita una reacción entre el catecol y el oxígeno. En presencia de oxígeno, el catecol es oxidado por la remoción de dos átomos de hidrógeno. El catecol es así convertido en benzoquinona, y el oxígeno es reducido por la adición de dos átomos de hidrógeno para formar agua. Las moléculas de benzoquinona se unen luego para formar cadenas largas y ramificadas. Estas cadenas son la base estructural de los pigmentos melanoides rojo y café que causan el oscurecimiento. El ácido caféico es otro compuesto fenólico que en presencia de una polifenol oxidasas se convierte en una quinona, esta reacción es típica del oscurecimiento de frutas como la papa o el plátano (Cosio y Dunand, 2009).

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar de manera cualitativa la presencia de oxidasas en extractos acuosos de diferentes vegetales y determinar la efectividad de dichos extractos en la decoloración de índigo carmín.

2. METODOLOGÍA

2.1 Material vegetal

Los materiales vegetales que se utilizaron son: Cebolla (*Allium cepa*), col común (*Brassica oleracea* var. *viridis*), coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), nabo (*Brassica napus* var. *rapifera*), chícharo y su cáscara (*Pisum Sativum*), cáscara de chayote (*Sechium edule*), cáscara de pepino (*Cucumis sativus*). Todos estos materiales se compraron en el mercado ubicado frente a la UAM-X sobre Calzada del Hueso, en Ciudad de México.

Los vegetales se lavaron previamente con agua y jabón, se cortaron y molieron en proporción de 1 g de vegetal por cada mL de Buffer fosfatos; se centrifugaron, filtraron.

2.2 Presencia de oxidasas

En un tubo de ensaye se agregaron 1 mL de Buffer fosfatos, 100 μ L de solución ya sea de guayacol ácido caféico, catecol o ácido pirogálico al 0.5%; 1 ml del extracto acuoso vegetal y finalmente 40 μ L de solución de H₂O₂ al 0.1%. Agitar y observar cambio de coloración característico que indique la presencia de peroxidasas. Las lecturas se hicieron a las longitudes de onda indicadas en la tabla 1

Tabla 1. Longitudes de onda para detectar oxidación de los reactivos utilizados

Material	Longitud de onda (nm)
Guayacol	470
Catecol	410
Ácido Caféico	420
Ácido Pirogálico	575

2.3 Decoloración de índigo carmín

Las reacciones de decoloración se llevaron a cabo en una celda para el espectrofotómetro UV Génesis 20, a la cual se le adicionaron en partes iguales, el extracto acuoso vegetal y solución de índigo carmín 200 ppm, así como 40 μ L de una solución de peróxido de hidrógeno al 0.1%. La absorbancia se determinó a 610 nm y se registró el tiempo en que se obtuvo decoloración completa, es decir que no se observara señal en el espectrofotómetro.

3. Resultados

En la tabla 2 se observa la evaluación cualitativa de la presencia de peroxidasas y polifenol oxidasas, las cruces indican la intensidad de color que se obtuvo para cada mezcla de reacción. Se observa que todos los materiales vegetales mostraron altas cantidades de guayacol oxidasa. Los extractos de la cáscara de chayote, así como de la cáscara y fruto del chícharo, tuvieron la capacidad de oxidar al catecol, al ácido caféico y al ácido pirogálico; mientras

que en los extractos de la cebolla y el nabo solo se registró la peroxidasa que oxida al guayacol, el extracto de dichos materiales no pudo oxidar al catecol, al ácido caféico ni al ácido pirogálico.

Tabla 2. Presencia cualitativa de peroxidasas y polifenol oxidasas

Vegetal	Catecol	Ac. Caféico	Ac. Pirogálico	Guayacol
Cáscara de chícharo	++	++	+	++++
Chícharo	++	++	+	++++
Cáscara de chayote	++	+	+	++++
Coliflor	+	---	+	++++
Cáscara de pepino	---	+	+	++++
Col	---	---	+	++++
Nabo	---	---	---	++++
Cebolla	---	---	---	++++

Intensa++++, Moderada+++ , ++Leve, +Pobre, ---Nula

En la tabla 3 se muestra el tiempo para que los diferentes extracto evaluados decoloraran completamente al índigo.

Tabla 3. Tiempo transcurrido para decoloración completa del índigo (100 ppm)

Vegetal	Tiempo
Cáscara de chayote	10 min
Cáscara de chícharo	30 min
Cáscara de pepino	30 min
Coliflor	30 min
Nabo	2 h
Chícharo	3 h
Col	24 h
Cebolla	24 h

Se observa que los extractos donde se observó de manera cualitativa la presencia de varias peroxidasas, que oxidaron a 3 o 4 de los sustratos mostrados en la tabla 2 (catecol, guayacol, ácido caféico y ácido pirogálico) oxidaron en un menor tiempo al índigo, observándose la decoloración completa en menos de una hora. En el caso del nabo, se logró la decoloración completa del colorante a las 2 horas y este material solo mostró presencia de guayacol peroxidasa, por lo que se puede inferir que contiene algún otro tipo de peroxidasa. La col y la cebolla fueron los materiales que tardaron más en decolorar de manera completa al índigo y coincide con que los extractos de estos vegetales presentaron sólo actividad guayacol oxidasa y, en el caso de la col además una ligera presencia de enzimas que oxidan al ácido pirogálico.

En la figura 1 se muestra el espectro UV del índigo Camín y en la figura 2 el espectro de la mezcla de reacción del índigo con el extracto de cáscara de pepino, donde se aprecia la decoloración completa por la desaparición de la señal a 610 nm. En todos los casos se registró el tiempo hasta que no se observó la señal del colorante.

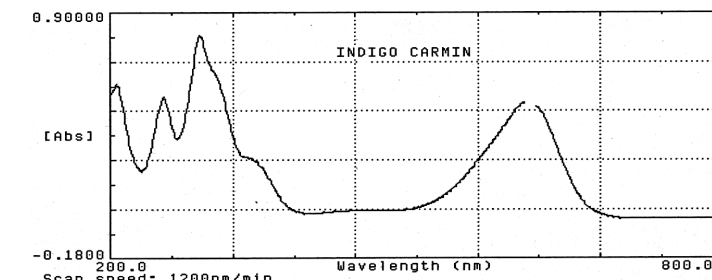


Figura 1. Espectro UV-Vis del índigo carmín, señal con máximo de absorbancia a 610 nm

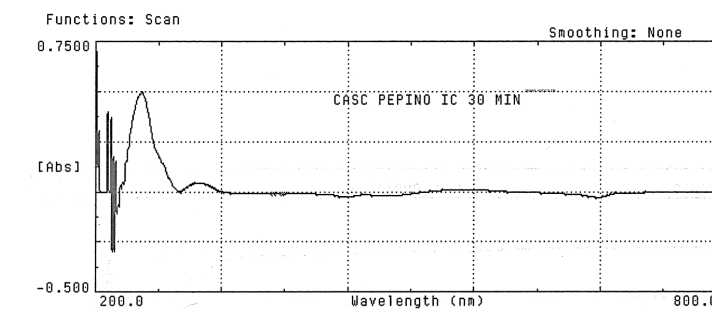


Figura 2. Espectro UV-Vis del índigo carmín, señal con máximo de absorbancia a 610 nm

CONCLUSIONES

Los extractos vegetales tienen enzimas peroxidasas y fenoloxidasas que pueden usarse para decolorar colorantes textiles, como es el índigo carmín, aunque

no se sabe con exactitud cuál enzima es la responsable de ello, se puede aplicar íntegramente el extracto acuoso con buenos resultados, sin necesidad de purificar las enzimas, lo cual trae un beneficio en el costo y simplifica el método, además de aprovechar los residuos vegetales.

REFERENCIAS

Campos, R., Kandelbauer, A., Robra, H.A., Cavaco-Paulo, A. and Gubitz, M.G. 2001. Indigo degradation with purified laccases from *Trametes hirsuta* y *Sclerotium rolfsii*. *J Biotechnol.* 98:131-139.

Cosio, C. and Dunand, Ch. 2009. Specific functions of individual class III peroxidase genes. *J Exp Bot.* 60(2):391-408.

Gil, G.M.J., Usma, G.J.I., Soto, Z.A.M., Gutiérrez, F.O.D., León, S.S. and Jiménez, T. 2011. Decoloración de Efluentes Textiles que contienen colorantes reactivos empleando extracto de alcachofa. *Producción + Limpia.* 6(2):19-31.

Hiraga, S., Sasaki, K., Ito, H., Ohashi, Y. and Matsui, H. 2001. A Large Family of Class III Plant Peroxidases. *Plant Cell Physiol.* 42(5):462-468.

Pramparo, L. 2008. Tesis: Study of a torus bioreactor for the enzymatic elimination of 3. Phenol, Universitat Rovira i Virgili. Extraída el 20 de Mayo del 2012, de <http://www.tdx.cat/TDX-1124108-100126>.

Quintero, L. and Cardona, S. 2010. Tecnologías para la decoloración de tintes índigo e índigo carmín. *Dyna.* 77(162): 371-386.

Rajeswari, K., Subashkumar, R. and Vijayaraman, K. 2011. Biodegradation of Mixed Textile Dyes by Bacterial Strains Isolated from Dyewaste Effluent. *Res J Environ Toxicol.* 5(2):97-107.

Tortora, G.J., Funke, B.R. and Case, Ch.L. 2007. Introducción a la Microbiología, Ed. Médica Panamericana, Novena edición, 959 pps.



RESUMEN

En los últimos años han aumentado considerablemente las problemáticas por plagas y enfermedades en el campo. La globalización, el cambio climático y la falta de reposo de la tierra para el cultivo, son de los principales factores que han impactado negativamente en el sector agrícola, propiciando la aparición de nuevas plagas y enfermedades mucho más resistentes y difíciles de tratar. En agricultura se entiende como manejo integrado de plagas (MIP) o control integrado/integral de plagas (CIP) a una estrategia que usa una gran variedad de métodos complementarios: físicos, mecánicos, químicos, biológicos, genéticos, legales y culturales para el control de plagas. En el control biológico, se utilizan organismos vivos como hongos, insectos, nematodos, entre otros, para controlar las plagas. Es un método ecológico que aspira a reducir o eliminar el uso de plaguicidas y de minimizar el impacto al medio ambiente y desde luego, evitar problemas de salud para el ser humano y los animales.

Palabras clave: agrocultivos, plagas, control biológico

ABSTRACT

Pest and disease problems in the field have increased considerably in recent years. Globalization, climate change and lack of land rest for cultivation have negatively impacted the agricultural sector, promoting the emergence of new pests and diseases much more resistant and difficult to treat. The Integrated management of pests (IPM) or integrated/integral pest control (IPC) for agriculture is a strategy that uses a variety of complementary methods: physical, mechanical, chemical, biological, genetic, legal and cultural for pest control. In biological control, living organisms such as fungi, insects, nematodes, among others, are used to control pests. It is an ecological method that aims to reduce or eliminate the use of pesticides and to minimize the impact to the environment and certainly avoid problems of health for human and animals.

Key words: agroforestry, pests, biological control

CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS PARA CULTIVOS DE IMPORTANCIA AGRONÓMICA

Soley Berenice Nava Galicia*, Martha Bibbins Martínez

Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada-Instituto Politécnico Nacional
Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla de Lardizábal Km 1.5, Tlaxcala,
México C.P. 90700
snava@ipn.mx*

INTRODUCCIÓN

México es un país megadiverso, su variedad de suelos, climas y ecosistemas a lo largo y ancho del territorio nacional brinda una amplia opción para la agricultura. Seis productos principalmente representan el 58% de la superficie sembrada, siendo los más importantes a nivel de producción; el maíz, sorgo, frijol, café, caña de azúcar y trigo entre otros (Figura 1). Aunque la situación biogeográfica de México la pone en riesgo de insectos exóticos invasores que entran desde los Estados Unidos, Centroamérica o el Caribe. Plagas tan conocidas como el *Diatraea grandiosella*, *D. lineolata* y *D. muellerella*, perforadores del maíz y caña de azúcar, *Anastrepha* spp mosca de la fruta, *Anticarsia gemmatalis* oruga de terciopelo, *Maconellicoccus hirsutus* cochinilla de árboles frutales, *Schistocerca piceifrons piceifrons* langosta que se alimenta de una gran variedad de especies vegetales (400 spp), *Hypothenemus hampei* plaga del café (Trevol, et al 2013) (Figura 2), lo que representa pérdidas del 20 al 40% del rendimiento. (FAO, 2015). En el presente artículo se contempla el uso de diferentes métodos para

controlar poblaciones de insectos plaga, haciéndose énfasis en el control biológico, como parte de una estrategia para el Manejo Integrado de Plagas, que favorezca de forma general, la conservación del medio ambiente y de forma particular, la agricultura orgánica.

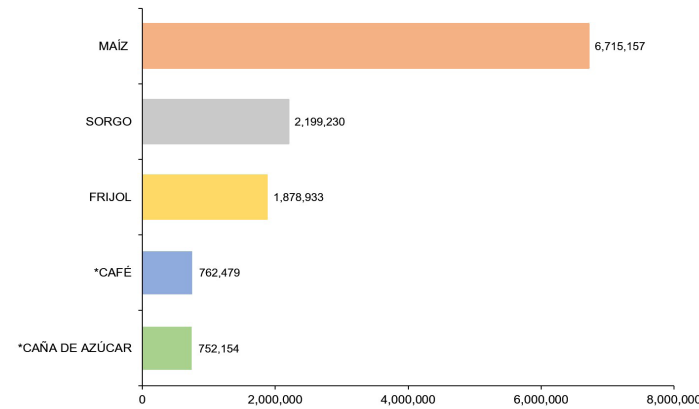


Figura 1. Superficie sembrada por cultivo (hectáreas). cultivos anuales y *cultivos perennes. Año agrícola octubre 2013- septiembre 2014 (INEGI/ENA, 2014)

MÉTODOS DE CONTROL

Control químico

Por más de 50 años el combate de insectos plaga en la agricultura se ha hecho principalmente por medio de insecticidas químicos (organoclorados). Estos productos tienen un papel importante en la reducción de los daños económicos en los cultivos. Sin embargo, la toxicidad elevada de algunos de ellos, la persistencia en el medio, la resistencia de los insectos plaga, así como su mal uso han llevado a un replanteamiento de las estrategias de control de plagas (Suárez, et al, 1992). (Figura 3)



Figura 3. Aplicación de insecticida químico. Tomado de MC COMPAÑÍA DE SERVICIO ©2017

Control manual

La eliminación de malezas o malas hierbas en el medio del cultivo, es una de las principales acciones, esta práctica se debe realizar por lo menos dos veces durante el ciclo agrícola, favoreciendo el desarrollo de los cultivos al no competir por luz, agua y nutrientes. Remover el suelo (aporque) y amontonar la tierra en la base de las plantas en el sentido de los surcos esta práctica es seguida previa al segundo deshierbe. Finalmente se considera a la fertilización -utilizando principalmente fertilizantes orgánicos- para proveer nutrientes esenciales para el cultivo.

CONTROL BIOLÓGICO

El control biológico como parte de las estrategias para el manejo integrado de plagas, consiste en la utilización de organismos vivos con el fin de controlar las poblaciones problema. Es un método ecológico que aspira a reducir o eliminar el uso de plaguicidas y de minimizar el impacto al medio ambiente. Se habla también de manejo ecológico de plagas (MEP) y de manejo natural de plagas. La parte primordial del control biológico de plagas es la identificación de las mismas, diferenciando y auspiciando aquellos enemigos naturales de las especies dañinas al cultivo (Figura 4). Esto implica un conocimiento profundo de la adversidad a fin de identificarla correctamente para poder conocer que organismo utilizar para el control, ya que una



Figura 4. Atributos de enemigos naturales efectivos

de las características de este manejo es su alta especificidad (Bellows y Fisher, 1999). Estos métodos se aplican en tres etapas: prevención, observación y aplicación.

Entre los organismos usados como agentes de control se incluyen virus, bacterias, hongos y otros microorganismos patógenos, nematodos, caracoles, insectos, ácaros y vertebrados.

ESTRATEGIAS DEL CONTROL BIOLÓGICO

Método clásico

Esta estrategia consiste en la introducción de un enemigo natural, como lo pueden ser parasitoides y predadores con la intención de controlar a los insectos y microorganismos mismos que se establecen y regulan la plaga a la cual se pretende atacar, como lo es el caso de *Prorops nasuta* Wasterston, *Cephalonomia stephanoderis* Betrem y *Phymastichus coffea*, (La Salle) en proporción 1:10 (Infante, et al, 2013) que son empleados para el control de la broca del café (Figura 5). Este método es utilizado eficientemente en aquellos casos donde la plaga ha colonizado una nueva zona y por lo tanto sus enemigos naturales no se encuentran en el lugar.

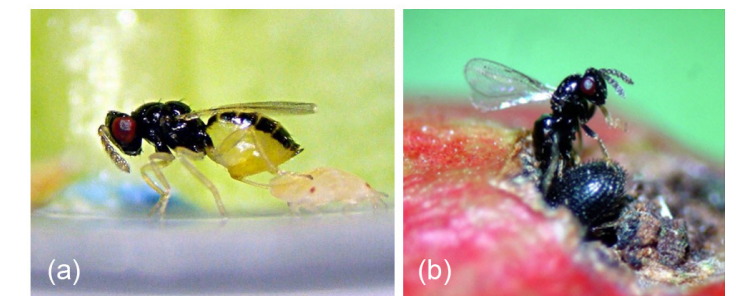


Figura 5. Parasitoides *Cephalonomia stephanoderis* (Betrem) y *Phymastichus coffea* (La Salle), atacando a la broca del café *Hypothenemus hampei*, estado larvario (a) y adulto (b)

Principales plagas de cultivos de importancia agronómica



Maíz	Gusanos trozadores (<i>Agrotis ipsilon</i>) Trips (<i>C. phaseoli</i> , <i>Frankiniella</i> spp), Pulgón (<i>R. maidis</i>), gusano elotero (<i>Helicoverpa zea</i>), Araña roja (<i>Tetranychus</i> sp), entre otros
Caña de azúcar	Barrenadores (<i>D. magnifactella</i> , <i>D. saccharalis</i> , <i>Chilo loftini</i>), Mosca pinta o salivato (<i>Aenaolamia postica</i> , <i>Prosapia</i> spp), Pulgón amarillo (<i>Sipha flava</i>), Chinche de encaje (<i>Leptodyctia tabidae</i>), Piojo harinoso (<i>Pseudococcus sacchari</i>)
Frijol	Mosquita blanca (<i>Bemisia tabac</i> , <i>B. argentifolii</i>), Chicharrita (<i>Empoasca</i> spp), Trips (<i>Caliothrips phaseoli</i>), chinche verde (<i>Nezara viridula</i>), Conchuela café (<i>Euschistus servus</i>)
Café	Broca (<i>Hypothenemus hampei</i>), Minador de la hoja (<i>Leucoptera coffeellum</i>), Palomilla de las raíces (<i>Dysmicoccus</i> spp)
Sorgo	Gusano de alambre (<i>Melanotus</i> sp., <i>Agriotes</i> sp., <i>Dalopius</i> sp), Gusano cogollero (<i>Spodoptera frugiperda</i>), Arañuela o araña roja (<i>Tetranychus</i> sp.), Mosquita de la panoja (<i>Contarinia sorghicola</i>), Barrenador del tallo (<i>Diatraea</i> sp., <i>Elasmopalpus lignoselus</i>),Roya del sorgo (<i>Puccinia sorghi</i>)
Trigo	Pulgón verde del follaje (<i>Schizaphis graminum</i>)

Figura 2. Cultivos de importancia agronómica en México y sus principales plagas (Trevol, et al 2013)

Método de inundación e inoculación

El objetivo de esta estrategia es aumentar exponencialmente la cantidad de enemigos naturales. Puede llevarse a cabo de dos formas diferentes. Por un lado, la liberación por inundación consiste en la liberación de un importante número de individuos y crías donde se encuentre la plaga problema. Los agentes de control (organismos liberados) deben encontrar y eliminar una alta proporción de la población blanco antes de dispersarse o pasar a ser inactiva. Así, el éxito de este método depende exclusivamente de la población liberada y no en su progenie. Este método permite un control rápido y eficaz. Es utilizado en cultivos cortos o anuales como por ejemplo en cultivos bajo invernadero.

Un ejemplo de esto es la utilización de *Trichogramma brassicae* contra el barrenador del maíz, (*Ostrinia nubilalis*) donde son liberados en general 300.000 tricogramas por hectárea. Otro ejemplo es el utilizado para la mosca de la fruta *Anastrepha* spp plaga importante de las frutas cultivadas y silvestres de América Latina (Aluja M. 1994), su control biológico se realiza con la acción de parasitoides *Diachasmimorpha longicaudata*, 940 parasitoides son liberados por hectárea los cuales reducen el 70% de las poblaciones de *Anastrepha* en huertos de mango en el sur del país (Montoya, et al. 2000).

Por otro lado, la técnica de inoculación consiste en la liberación periódica de un número más reducido de determinados artrópodos al invernadero. Esta técnica se utiliza cuando la plaga problema aún no ha llegado a los umbrales críticos. Se espera que sean capaces de controlar la plaga desde el principio y de reproducirse y multiplicarse subsecuentemente. Todo con el fin de controlar a corto plazo y erradicar a largo plazo.

Dentro de los ejemplos de control biológico por la técnica de inoculación se encuentran el de *Orius laevigatus*, o chinche de la flor, para el control de *Frankliniella occidentalis*, introduciéndose sueltas desde la aparición de las primeras flores del pimiento este hemíptero es comúnmente utilizado para el control de diversos Trips (Kirk, et al, 2003). El empleo de hongos entomopatógenos para los saltamontes *Brachystola magna*, *B. mexicana*, *Melanoplus differentialis* y *Sphenarium purpurascens*, que afectan cultivos como el maíz, frijol, sorgo, soya y calabazas, utilizando a *M. anisopliae* (4×10^{12} conidios por hectárea) como agente control, ha sido reportado como altamente efectivo con niveles de control de plagas que consistentemente exceden en 70% (Hernández y Toriello, 2008).

Conservativo

Como su nombre lo indica, tiene el objetivo de conservar y proteger la población de enemigos naturales ya presentes. El método es más extenso, difícil y poco práctico, para

soluciones rápidas y eficaces. Para esto, es necesario, identificar cuáles son los factores que limitan esta población; lo que implica un profundo conocimiento de la biología de la especie. Algunas de las medidas que pueden tomarse es, por ejemplo, la introducción de especies florales productoras de néctar y polen (en el caso que la especie que actúa de enemigo natural se alimente de ellos). Sin embargo, es un método seguro, que puede ser aplicado previo la preparación del cultivo. En dicho sentido, es un método principalmente preventivo y anticipado, para el control biológico de plagas. Un ejemplo de este tipo de estrategia sea empleado para los perforadores del maíz y caña de azúcar. Siete especies son responsables de la mayoría de las infestaciones económicamente importantes en maíz y caña de azúcar. *Diatraea grandiosella*, *D. lineolata* y *D. muellerella* son principalmente plagas del maíz; *D. considerata* y *D. magnifactella* prefieren la caña de azúcar; Y dos especies adicionales, *D. saccharalis* y *Eoreuma loftini*, se encuentran en niveles similares en ambos cultivos. Un total de 37 especies de parasitoides han reportado atacar este complejo de plagas en México. Además de los parasitoides nativos, la liberación de *Trichogramma* spp. contra estas plagas ha estado la gestión de las poblaciones de taladores con ageste de biocontrol eficaces sigue siendo un objetivo difícil de alcanzar (Arredondo, et al, 2008)

Otros casos concretos de este tipo de control podemos mencionar el ataque en varios cultivos de los Aphídidos (pulgones), se deben proteger las larvas de los Hemeróbidos, de los Syrphidos, de los Hemeróbidos y de los Coccinélidos los cuales devoran las larvas de estos Aphidos y para el pulgón de las hojas del maíz (*Aphis maydis*), se utilizan avispas parasitas, catarinas y las arañas zancudas (Chávez, 1913).



La decisión para el control de cualquier plaga puede ser flexible, ya que depende de la información proveniente del muestreo, las ganancias del cultivo, de los aspectos sociales de la comunidad y de las condiciones ambientales donde se desarrolle. El manejo integrado de plagas pretende lograr ganancias sin deteriorar el medio ambiente y enfatiza el control biológico por que busca una solución permanente al problema de plagas. (Tabla 1)

Tabla 1. Beneficios del control biológico de plagas

VENTAJAS	BENEFICIOS
Utilización de enemigos naturales	Establecimiento y producción de organismos
Poco o nulo riesgo a la resistencia	Prevé la utilización de bioquímicos y fumigación
Especificidad del depredador	Reducción del impacto a la producción agrícola
Incremento en la producción orgánica	Reestablecimiento de los niveles de control (Autosostenido)
	Promover la agricultura sustentable

PERSPECTIVA

El camino a seguir debe considerar el desarrollo de paquetes de protección de cultivos adaptados para satisfacer las necesidades y capacidades de los agricultores en diferentes sectores. Estos paquetes deben de incluir medidas para conservar las poblaciones enemigas naturales tales como el uso de insecticidas biorracionales y feromonas cuando estén disponibles, en combinación con el aumento natural del enemigo y medidas de control cultural cuando sea posible. La participación de los agricultores en programas de educación y capacitación que sean apropiados para sus experiencias les permitirá comprender la relación entre cultivos y plagas.

REFERENCIAS

- Aluja M. 1994. Bionomics and management of *Anastrepha*. Annu. Rev. Entomol. 39:155-78
- Ansari, M.A., et al. 2007. Control of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*) pupae with *Metarhizium anisopliae* in peat and peat alternative growing media. Biological Control 40:3, 293-297.
- Arredondo, H.C., Rodríguez, L.A., 2008. Casos de Control Biológico en México. Ciudad de México: Mundi Prensa. 423 pp.
- Bellows, T. S., Fisher, T. W., 1999. Handbook of biological control: principles and applications of biological control. Academic Press. pp. 418-. ISBN 9780122573057. Consultado el 21 de enero de 2011.
- Chávez, E., 1913. Cultivo del maíz. Imprenta y Fototipia de la Secretaría de Fomento, México.

Fondo para la Agricultura y la Alimentación de las Naciones Unidas, 2015. <http://www.fao.org/mexico/es/>

Gómez, J., Chávez, B., Castillo, A., Valle, F., Vega, F., 2015. The Coffee Berry Borer (Coleoptera: Curculionidae): How Many Instars are There?, Annals of the Entomological Society of America, Volume 108, Issue 3, 1 May 2015, Pages 311-315, <https://doi.org/10.1093/aesa/sav009>

Gómez, J., Santos, A., Valle, J., Montoya, P., 2017. Determinación del establecimiento de parasitoides de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) en cafetales del Soconusco, Chiapas, México. Entomotropica, [S.l.], p. 25-35, jul. 2011. ISSN 2443-437X. Disponible en: <<http://entomotropica.org/index.php/entomotropica/article/view/257>>. Fecha de acceso: 06 ago. 2017

Hernández, V.M., Toriello, C., 2008. Langosta voladora, *Schistocerca piceifrons piceifrons* (Orthoptera: Acrididae). See Ref. 11, pp. 47-56

Infante, F., Castillo, A., Pérez, J., Vega, F., 2013. Field-cage evaluation of the parasitoid as a natural enemy of the coffee berry borer, , Biological Control, 67:3, pgg 446-450, ISSN 1049-9644, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.09.019>.

Instituto Nacional de Geografía y Estadística, Encuesta Nacional de Agricultura (ENA), 2014. <http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/encuestas/agropecuarias/ena/ena2014/>

Montoya, P., Liedo, P., Benrey, B., Cancino, J., Barrera, J.F., et al. 2000. Biological control of *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae) in mango orchards through augmentative releases of *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). Biol. Control 18:216-24

Kirk, D.J., Terry, I.L., 2003. The spread of the western flower thrips *Frankliniella occidentalis* (Pergande). Agricultural and Forest Entomology 5: 301 - 310.

LaSalle, J., 1990. A new genus and species of Tetranychinae (Hymenoptera:Eulophidae) parasitic on the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*(Coleoptera:Scolytidae). Bulletin of Entomol. Reseach. Londres. 80:7-10.

Thyagaraj, N. E., Reddy, G. M., Naik, S. O., & Doddabasappa, B., 2016. Arthropod Communities in Coffee: A Habitat Mimicking Tropical Forests. In Economic and Ecological Significance of Arthropods in Diversified Ecosystems. Springer Singapore. (pp. 343-359)

Suárez, R., Hernández, J., Serrano, J., De Armas, G., 1992. Plagas, Enfermedades y su control. Editorial Pueblo y Educación

Trevor Williams, Hugo C. Arredondo-Bernal, Luis A. Rodríguez-del-Bosque, Biological Pest Control in Mexico. Journal Article. 2013. Annual Review of Entomology 119-140 58:1 doi:10.1146/annurev-ento-120811-153552 PMID 22974068

ABSTRACT

Use of enzymes for chemical catalysis have some advantages, for example they are specific so they only catalyze the reaction you want them to, using lower temperatures and pressures means a lower cost as it saves energy, enzymes work for a long time so after the initial cost of buying them you can continually use them, they are biodegradable and therefore cause less environmental pollution. Other important factors for pharmaceutical industry is that enzymes, besides those, have the ability to accelerate reactions enantio selectively. We study the biocatalytical properties of the HNLs from *Prunus serotina* var. *capuli* seeds, like a very cheap enzyme source to catalyze enantiomeric reactions. Towards the addition of HCN to 2-chlorobenzaldehyde, by evaluating the conversion and ee% (enantiomeric excess). We found that this material catalyzes the reaction at 17 to 51% conversion and 43 to 83 ee%. The better conditions are: low concentrations of the aldehyde (0.047 M), 1.23 to 2.43 % aqueous phase and 1 or 2 ratio seed/aldehyde.

Key words: *Prunus serotina*, Hydroxynitrile lyases, cyanohydrins, enantioselectivity

RESUMEN

El uso de enzimas para catálisis química tiene varias ventajas, por ejemplo son específicas así que solo catalizan la reacción deseada, su uso a bajas temperaturas y presiones significa un ahorro por la reducción de energía, las enzimas actúan por largos periodos por lo que después del desembolso inicial para su adquisición pueden seguirse usando continuamente, son biodegradables por lo que ocasionan menos contaminación. Otro factor importante para la industria farmacéutica es que las enzimas, además de los anteriores, tengan la habilidad de acelerar reacciones de manera enantioselectiva. Se estudió las propiedades biocatalíticas de las semillas de *Prunus serotina* var. *Capulí*, como una fuente muy económica de enzimas para catalizar reacciones enantioméricas. Mediante la adición de HCN al 2-cloro benzaldehído, mediante la evaluación del porcentaje de conversión y de %ee (exceso enantiomérico). Encontramos que este material cataliza la reacción en un 17 a 51% de conversión y de 43 a 83 de porcentaje de ee. Las condiciones mejores fueron: baja concentración del aldehído (0.047 M), de 1.23 a 2.43 % de fase acuosa y relación semilla a aldehído de 1 o 2.

Palabras clave: *Prunus serotina*, hidroxinitrilo liasas, cianohidrinas, enantioselectividad.

HYDROXYNITRILE LYASE ACTIVITY OF *Prunus serotina*

Aida Solís Oba^{1*}, Myrna Solís Oba², Herminia I. Pérez¹, Norberto Manjarrez¹.

¹ Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco

¹ Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada

* asolis@correo.xoc.uam.mx

INTRODUCTION

The application of enzymes as catalysts for chemical synthesis, has become an increasingly valuable tool for the synthetic chemist. Enzymatic transformations, carried out by partially purified enzymes or whole-cell as catalysts, are used for the production of a wide variety of compounds, mainly to assist in synthetic routes to complex molecules of industrial interest. Biocatalytic processes are often cheaper and more direct than their chemical counterparts, and the conversions normally proceed under conditions that are regarded as ecologically acceptable (Wohlgemuth, 2007). The main source of enzymes used in biocatalytic process comes from microorganisms, although enzymes from plants are good alternative have remained less explored (Cordell, 2007).

Hydroxynitrile lyases (HNLs) or oxynitrilases constitute a diverse family of enzymes that have been isolated from a wide variety of plant sources (Asano et. al, 2005; Solís et. al, 2004). Hydroxynitrile lyases are widespread in plants playing a major role in disease suppression; and only recently a bacterial protein with HNL activity in the cyanohydrin cleavage reaction was reported (Hassain et al, 2012), over 3,000 plant species are cyanogenic. Cyanogenesis is defined as the hydroxynitrile lyase catalysed release of a cyanide group in the form of HCN and the corresponding aldehyde or ketone. When a plant is attacked, HCN released is a self defence mechanism. A special characteristic of enzymatic reactions is that all enzymatic reactions are reversible-hydroxynitrile lyases can also be used for the synthesis of enantiomerically pure cyanohydrins which are of great importance in industry (Kassim and Rumbold, 2014). In chemical industries, hydroxynitrile lyase is used as an important industrial biocatalyst for the synthesis of chiral cyanohydrins by exploiting the reversible enzymatic reaction. Cyanohydrins are biologically active compounds used in synthesis of α -amino alcohols, -hydroxy ketones and -hydroxy acids, which have importance as fine chemicals, pharmaceuticals and agrochemicals. Many recombinant hydroxynitrile lyases have been expressed in *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia pastoris* (Sharma et al, 2005).

Apart from the interesting aspects of their catalytic function, HNLs are of practical importance as biocatalysts for the reverse reaction of cyanogenesis, that is, the stereoselective addition of HCN to carbonyl compounds to produce optically active cyanohydrins (Sherma et. al, 2005). The importance of cyanohydrins is highlighted in several reviews, and special attention is given to the synthetic utility and application of optically active cyanohydrins that

can be readily converted into α -hydroxy carboxylic acids, primary and secondary β -hydroxyamines, α -aminonitriles, α -hydroxyketones, α -amino- β -hydroxy carboxylic acids, pantolactones, that have biological activities like insecticides, antibiotics, aziridines, bronchodilators, Cardiac drugs, D- and L-sphingosines, vitamins, thalidomide, hypoglycemics, etc. Also have been studied applications to Industrial scale (Purkarthofer et. al, 2007). (R)-2-chloromandelonitrile is used for the preparation of (R)-2-chloromandelic acid, a key intermediate for the production of clopidogrel, drug widely administered as anticoagulant, that reduces the risk of cardiovascular events in patients with acute coronary syndromes.

The aim of this paper is to study the biocatalytic properties of the HNLs from *Prunus serotina* var. *capuli* (capulin) seeds, like a cheap source of enzymes that catalyzed enantiomeric reactions, towards the addition of HCN to 2-chlorobenzaldehyde.

EXPERIMENTAL

1. Chemicals

Enantiomeric excesses were determined by HPLC, using a Chiralcel OD column and hexanes-isopropanol as eluent in a Hewlett-Packard 1050 series, equipped with a diode array detector. Conversion percentages were determined by NMR. ¹H NMR spectra were recorded on a Varian instrument at 400 MHz, using CDCl₃ as a solvent and TMS as internal reference.

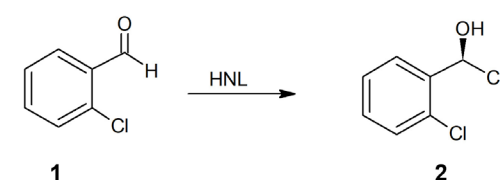
The capulin seeds were obtained from fresh fruits purchased in local grocery stores. The upper layer of the seeds was cracked with a hammer to give the soft kernels inside, and the fleshy cover was removed to obtain the seeds, then they were blended three times with acetone, after filtration by suction the powder was air dried and stored at 4°C, this defatted meal was used as biocatalyst source.

2. Biocatalytic addition of HCN to 2-chlorobenzaldehyde

To a solution of HCN in diisopropyl ether and KCN/citric acid or NaOH/citric acid buffer solution, was added the defatted meal, then the aldehyde, the mixture was stirred 38 h at 4°C, after that time it was filtered and the solvent evaporated to dryness. The product was analyzed by HPLC using a Chiralcel OD column to determine enantiomeric excess (ee) % and by ¹H NMR the conversion.

RESULTS AND DISCUSSION

The reaction evaluated was the follow:



2-chlorobenzaldehyde

2-chlorobenzaldehyde cyanohydrin

Table I shows results obtained considering the different reaction conditions tested.

Table I. Enantiomeric excess of 2 under different reaction conditions.

Entry	2 chlorobenzaldehyde [M]	Aqueous phase (%)	Ratio seed: aldehyde	%conv	ee %
1	0.2	2	1.8	43	48
2	0.12	90	2.5	nd	64
3	0.12	50	2.5	nd	58
4	0.12	25	2.5	nd	62
5	0.12	12.5	2.5	nd	72
6	0.047	5.2	2	51	80
7	0.047	5.2	1	38	76
8	0.047	2.43	2	30	83
9	0.047	2.43	1	31	81
10	0.047	1.23	1	17	81
11	0.047	1.23	1	17	81
12	0.047	1.23	4.28	38	78
13	0.047	0.5	4.28	23	63
14	0.047	1.25	2.14	41	75

From results in **Table I** we can observe the following facts that have an important influence on the enantioselectivity of the reaction:

- *Prunus serotina* var. *capuli* is a good source of enzyme to catalysis the addition of HCN to 2-chlorobenzaldehyde with good ee%, from 48 to 83%.

- The lower ee% was obtained with the higher concentration of 2 chlorobenzaldehyde, as it can be observed, more concentrated solutions yield lower ee (Entry 1, ee 48%).

- Considering the aqueous phase, it is better to try with medium percentages, because high (12.5 to 90 %) or very low (0.5 %) aqueous phase content, also decrease the enantioselectivity (entries 2, 3, 4 and 5, 90 to 12.5% aqueous phase, ee 58-72%; entry 13, 0.5% aqueous phase, ee 63 %). The content of aqueous phase that improve the enantioselectivity is between 1.23 and 5.2%.

- The ratio seed:aldehyde also has an important influence on ee%, is recommended to use ratio 1 or 2; from entries 10, 11, 12, 13 and 14 it can be observed that more enzyme source do not enhance the enantioselectivity, using a ratio of 4.28 (entry 12 or 13) the ee was 78 or 63% respectively,

whereas using a ratio of 1 or 2 (entries 10 and 11) the ee was 81%.

Besides using seeds and vegetal material as enzyme sources to catalyze enantioselective reactions, it has been used other methods like using chemical catalysts, they are almost invariably rendered chiral (Bauer, 2012). Most enantioselective catalysts are effective at low substrate/catalyst ratios. Given their high efficiencies, they are often suitable for industrial scale synthesis, even with expensive catalysts. The design of new catalysts is very much dominated by the development of new classes of ligands. Certain ligands, often referred to as 'privileged ligands', have been found to be effective in a wide range of reactions. Organocatalysis refers to a form of catalysis, where the rate of a chemical reaction is increased by an organic compound consisting of carbon, hydrogen, sulfur and other non-metal elements. When the organocatalyst is chiral enantioselective synthesis can be achieved (Dalko, 2001)

CONCLUSIONS

Seeds like *Prunus serotina* var. *capuli* are an interesting and cheap sources of enzymes Hydroxynitrile lyases, that catalyzes enantioselectivity some reactions like the stereoselective addition of HCN to carbonyl compounds to produce optically active cyanohydrins. The better conditions to the addition of HCN to 2-chlorobenzaldehyde are: low concentrations of the aldehyde (0.047 M), 1.23 to 2.43 aqueous phase and 1 or 2 ratio seed/aldehyde.

REFERENCES

- Asano, Y., Tamura, K., Doi, N., Ueatrongchit, T., H-Kittikin, A. and Ohmiya, T. 2005. Screening for new hydroxynitrilases from plants. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 69: 2349-2357.
- Bauer, E.B. 2012. Chiral-at-metal complexes and their catalytic applications in organic synthesis. *Chemical Soc Rev.* 41 (8): 3153-67.
- Cordell, G.A., Lemos, T., Monte, F., and de Mattos, M. 2007. Vegetables as chemical reagents. *J. Nat. Prod.* 70:478-492.
- Dalko, P.I., Moisan, L. 15 October 2001. Enantioselective Organocatalysis. *Angewandte Chemie Internat Ed.* 40 (20): 3726-3748
- Hussain, Z., Wiedner, R., Steiner, K., Hajek, T., Avi, M., Hecher, B., Sessitsch, A. and Schwab, H. 2012. Characterization of Two Bacterial Hydroxynitrile Lyases with High Similarity to Cupin Superfamily Proteins. *Appl Environ Microbiol.* Mar; 78(6): 2053-2055.
- Kassim, M.A. and Rumbold, K. 2014. HCN production and hydroxynitrile lyase: a natural activity in plants and a renewed biotechnological interest. *Biotechnol Lett.* 36(2):223-228.
- Purkarthofer, T., Skranc, W., Schuster, C. and Griengl, H. 2007. Potential and capabilities of hydroxynitrile lyases as biocatalysts in the chemical industry. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 76:309-320.
- Sharma, M., Sharma, N. and Bhalla, T. 2005. Hydroxynitrile lyases: at the interface of biology and chemistry. *Enzym. Microb. Technol.* 37:279-294.
- Solís, A., Luna, H., Pérez, H.I. and Manjarrez, N. 2004. Study on the (R)-oxynitrilase activity of *Pouteria sapota*. *Tetrahedron*, 60:10427-10431.
- Wohlgemuth R. Interfacing biocatalysis and organic synthesis]. *Chem. Technol. Biotechnol.*, 82:1055-1062.
- Woodley, J.M. 2008. New opportunities for biocatalysis: making pharmaceutical processes greener. *Trends Biotechnol.* 26:321-327.



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 K. 1.5, Tlaxcala, C.P. 90700, México