

QuiBioUAS

Revista de Ciencias Químico Biológicas

Enero-Junio 2023

Núm. 1



U N I V E R S I D A D A U T Ó N O M A D E S I N A L O A

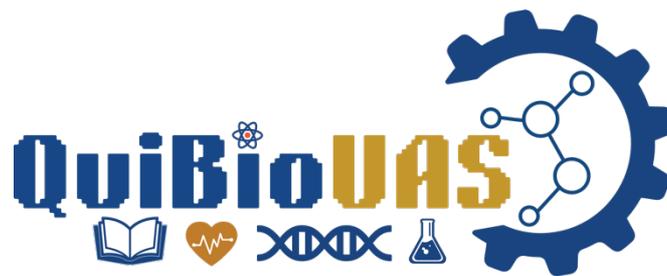


e-ISSN (en trámite)

QuiBioUAS

Número 1, 2024. ISSN (en trámite)

<https://revistas.uas.edu.mx/index.php/QBU/index>



DIRECTORIO INSTITUCIONAL

DR. ROBESPIERRE LIZÁRRAGA OTERO

Encargado de Despacho de Rectoría

DR. CANDELARIO ORTÍZ BUENO

Secretario General

DR. ALFONSO MERCADO GÓMEZ

Director General de Servicios Escolares

DR. JORGE MILÁN CARRILLO

Secretario Académico Universitario

DR. MARIO NIEVES SOTO

Director General de Investigación y Posgrado

DR. EUSIEL RUBIO CASTRO

Director de la FCQB

DRA. MARTHA EDITH LÓPEZ LÓPEZ

Editor en Jefe de la Revista QUIBIOUAS

COMITÉ EDITORIAL

Dra. Martha Edith López López

Editora en Jefe

Dr. Carlos Iván Delgado Niebla

Editor de sección y soporte técnico

Dra María de Jesús Navarro Arias

Editor de sección

Dr. Cristian Alarid García

Editor De Sección

Mec José Vladimir Paredes Cuevas

Editor Técnico, Traductor y Corrector de Estilo

Dra. Lidia Elena Ayón Reyna

Corrector de Estilo FCQB

Dra. Marcela Martínez Valenzuela

Corrector de Estilo FCQB

Juan Antonio de Jesús Zamora López

Diseño Gráfico-Maquetador FCQB

Lic. Héctor Carlos Leal López

Coordinador de Soporte Técnico

COMITÉ CIENTÍFICO

Dra. Perla Rosa Fitch Vargas

Profesor Investigador Facultad de Ciencias del Mar, SNI Nivel 1

<https://orcid.org/0000-0003-4097-4726>

Dr. Jordi Gerardo López Velázquez

Profesor Investigador en Universidad Tecnológica de Culiacán, SNI Nivel 1

<https://orcid.org/0000-0002-0901-5984>

Dr. Roberto Gutierrez Dorado

Profesor Investigador FCQB, SNI Nivel 1

<https://orcid.org/0000-0002-3192-1588>

Dra. Evangelina García Armenta

Profesor Investigador FCQB, SNI Nivel 1

<https://orcid.org/0000-0001-7219-9221>

El comité Editorial de QUIBIOUAS Revista de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa, agradece la colaboración realizada como pares evaluadores doble ciego, a los autores, revisores, así como a los correctores de estilo y editores, maquetadores y soporte técnico. Todo el proceso editorial mantuvo siempre la integridad del proceso de evaluación, cuidando la calidad de la revista QUIBIOUAS en su Número 1, enero-junio 2024. El acceso es abierto por lo que dará acceso a todo aquel que quiera leer cada una de estas publicaciones.

CINTILLO LEGAL

QUIBIOUAS No. 1, enero-junio 2024, es una publicación semestral, editada por la Universidad Autónoma de Sinaloa, a través de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas Calzada de las Américas Nte 2771, Cd Universitaria, Burócrata, Culiacán Rosales, Sinaloa. CP. 80013, teléfono 6677520460, página de internet <https://revistas.uas.edu.mx/index.php/QBU/index>, y correo electrónico editor.quibiouas@uas.edu.mx Editor responsable: Dra. Martha Edith López López, profesor investigador TC y SNI nivel 1. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo No. (en trámite), ISSN: (en trámite en el Instituto Nacional de Derechos de Autor). Responsable de actualizar la publicación: Dra. Martha Edith López López en enero de 2024.

Las opiniones expresadas por los/las/autores/as no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación. Se permite la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación siempre y cuando se cite la fuente original de forma detallada. Cada manuscrito está bajo la licencia Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional.

CONTENIDO

EDITORIAL

Carta del Editor

Dra. Martha Edith López López

AVANCES DE INVESTIGACIÓN

Síntesis verde de nanopartículas de plata (AgNPs) con biomasa de la microalga *Nannochloropsis oculata*

Green synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) using *Nannochloropsis oculata* biomass
Angulo-Espinoza, P.J., Santos-Ballardo, D.U.

8-14

Prevención del oscurecimiento enzimático de rebanadas de manzana por efecto de un tratamiento hidrotérmico, N-acetilcisteína y cloruro de calcio

Prevention of enzymatic browning of apple slices by effect of hydrothermal treatment, N-acetylcysteine and calcium chloride

Chaidez-Gastelum, D.C., Costich-Costich, G., Ayón-Reyna, L.E., López-Velázquez, J.G., García-Armenta, E., Vega-García, M.O.

15-23

Análisis de marcadores bioquímicos en gestantes con y sin preeclampsia que acuden al Centro de Investigación y Docencia en Ciencias de la Salud y al Hospital Civil de Culiacán

Analysis of biochemical markers in pregnant women with and without preeclampsia who attend the Center for Research and Teaching in Health Sciences and to the Civil Hospital of Culiacan

Mora-Palazuelos C.E., Aguilar-Medina M., Martínez-Quintero K.G., Ramos-Payan R., Lara-Ávila L., Herrera-Salazar A., Murillo-Llanes J., Romero-Quintana J.G.

24-32

Prevalencia de anticuerpos anti-Salmonella enterica serovar Typhi en individuos de Culiacán, Sinaloa, México

Prevalence of anti-Salmonella enterica serovar Typhi antibodies in individuals from Culiacan, Sinaloa, Mexico
Casal-Rodríguez, K.A., González-Orozco, M.J., Beltrán-López, E., Uribe-Beltrán, M.J., Osuna-Ramírez, I., López-Moreno, H.S

33-39

Efecto del agente másico de separación en destilación extractiva

Effect of the separation mass agent in extractive distillation

Bañuelos-Ruelas, L.C., Hernández-Calderón, O.M., Rubio-Castro, E., González-Llanes, M.D., Ortiz-del-Castillo, J.R.

40-47

Generación de biogás por digestión anaerobia a partir de nopal (*Opuntia ficus-indica*) y nejayote

Generation of biogas by anaerobic digestion from prickly pear cactus (*Opuntia ficus-indica*) and nejayote

Villapudua-Rivera, L.F., Sandoval-Rojas, I., Chávez-Parga, M.C.

48-54

CARTA DEL EDITOR

En los últimos años y de acuerdo a El Plan de Desarrollo Institucional con Visión de Futuro 2025 de nuestro rector Dr. Jesús Madueña Molina, la Universidad Autónoma de Sinaloa a través de la revista QUIBIOUAS de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas tiene como objetivo transmitir el conocimiento científico, mediante la publicación de artículos científicos originales e inéditos, con el apoyo de académicos altamente capacitados mediante una serie de procesos arbitrales de doble ciego.

Los artículos científicos en el área química son de gran relevancia para la comunidad científica, educativa y sociedad en general; ya que promueven en todo momento la difusión de los avances científicos. Las revistas de la Universidad Autónoma de Sinaloa, incluyendo QUIBIOUAS buscan el acceso libre a las publicaciones científicas proporcionando toda la información y datos necesarios para replicar y utilizar la información científica en la parte educativa y social de manera local, estatal, nacional e internacional.

Por lo que, es un placer invitarlos a compartir sus investigaciones científicas en la revista de Ciencias Químico Biológicas en áreas como salud, biotecnología, ingeniería y educación y llegar a todos los lectores interesados en el área.

Atentamente

Dra. Martha Edith López López

Síntesis verde de nanopartículas de plata (AgNPs) con biomasa de la microalga *Nannochloropsis oculata*

Green synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) using *Nannochloropsis oculata* biomass

Angulo-Espinoza, P.J.¹, Santos-Ballardo, D.U.^{2,3*}

¹Ingeniería en Nanotecnología, Universidad Politécnica de Sinaloa, Carr. Municipal Libre Mazatlán Higuera Km 3 Genaro Estrada, 82199. Mazatlán, Sinaloa

²Ingeniería en Energía, Maestría en Ciencias Aplicadas, Universidad Politécnica de Sinaloa, Carr. Municipal Libre Mazatlán Higuera Km 3 Genaro Estrada, 82199 Mazatlán, Sinaloa

³Laboratorio de ecotoxicología, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Unidad Mazatlán., Av. Sábalo Cerritos S/N, 82112. Mazatlán, Sinaloa

RESUMEN

Las nanopartículas de plata (AgNPs) son ampliamente estudiadas en nanotecnología, debido a sus numerosas aplicaciones en diversos campos, destacando por sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes. Sin embargo, los métodos de síntesis tradicionales para AgNPs tienen importantes desventajas ambientales. Con el objetivo de abordar este problema, se han explorado métodos de síntesis verde como alternativas más eficientes, rentables y respetuosas con el medio ambiente. Las microalgas han surgido como agentes prometedores para la reducción de iones de plata en la síntesis verde de AgNPs, siendo *Nannochloropsis oculata* particularmente efectiva. Si bien, estudios anteriores se han centrado en el uso de la biomasa microalgal completa, el potencial de la biomasa desgrasada, un subproducto generado en la producción de biodiesel microalgal, permanece inexplorado. En el presente proyecto se analizó la síntesis de AgNPs utilizando la biomasa completa y la desgrasada de la microalga *N. oculata*; analizando también el efecto de dos métodos de calentamiento: calentamiento asistido por microondas y agitación. Los objetivos del estudio incluyen determinar la combinación más efectiva para la síntesis de AgNPs y proyectar sus posibles aplicaciones. Los resultados obtenidos revelaron que todas las condiciones analizadas condujeron a la formación de nanopartículas de diferentes formas y tamaños, como se evidenció a través de espectroscopia UV-visible (UV-Vis). Los hallazgos del presente trabajo pueden contribuir a la obtención sostenible de recursos nanotecnológicos, a la reducción de residuos en la síntesis de AgNPs, y el desarrollo de nanomateriales con potenciales propiedades antimicrobianas y antioxidantes.

Palabras clave: Nanotecnología, Nanopartículas metálicas, Biosíntesis, Microalgas, Biomasa residual

ABSTRACT

Silver Nanoparticles (AgNPs) are widely studied in nanotechnology due to their numerous applications in various fields. However, traditional synthesis methods for AgNPs have significant environmental disadvantages. In order to address this issue, green synthesis methods have been explored as more efficient, cost-effective, and environmentally friendly alternatives. Microalgae have emerged as promising agents for silver ion reduction in green synthesis, with *Nannochloropsis oculata* being particularly effective. While previous studies have focused on the use of whole microalgae, the potential of deoiled microalgal biomass, a byproduct of biofuel production, remains unexplored. This project aims to investigate the synthesis of AgNPs using complete and deoiled biomass of *N. oculata*, comparing two heating methods: microwave-assisted heating and agitation. The study's objectives include determining the most effective combination for AgNPs synthesis and assessing their potential applications. The results obtained revealed that all the analyzed conditions led to the formation of nanoparticles of various shapes and sizes, as evidenced through UV-vis spectroscopy. The findings of this study could contribute to the sustainable acquisition of nanotechnology resources, the reduction of waste in the synthesis of AgNPs, and the development of nanomaterials with potential antimicrobial and antioxidant properties.

Keywords: Nanotechnology, Metallic nanoparticles, Biosynthesis, Microalgae, Residual biomass.

*Autor de correspondencia: Dr. David Ulises Santos-Ballardo

E-mail: ulises.ballardo@ciad.mx

ORCID ID: [0000-0001-5058-8621](https://orcid.org/0000-0001-5058-8621)

Registro ORCID Autores: AEP:[0009-0005-4898-8120](https://orcid.org/0009-0005-4898-8120)

Revista online: <https://revistas.uas.edu.mx/index.php/QBU/index>

INTRODUCCIÓN

La nanotecnología es la disciplina centrada en el estudio de la materia a escala atómica con fines de diseñar, sintetizar, manipular y aplicar estructuras, materiales y sistemas funcionales, mediante el control de ciertas sustancias a nanoescala, aprovechando las propiedades y los fenómenos físicos cuánticos presentes en esta dimensión (Gómez-Garzón, 2018).

En los últimos años la nanotecnología ha ganado especial interés en el mundo científico debido a su gran campo multidisciplinario. Esto ha ocasionado un gran desarrollo a escala mundial, provocando una revolución en un gran número de áreas y procesos relacionados con esta tecnología (Monge, 2009). Entre los productos más conocidos y estudiados de la nanotecnología se encuentran las nanopartículas (NPs), que son partículas extremadamente pequeñas, con un diámetro inferior a 100 nm ($1 \text{ nm} = 1 \times 10^{-9} \text{ m}$), y que pueden ser sintetizadas a partir de diversos metales, óxidos metálicos o de compuestos de naturaleza metálica (Gutierrez-Wing, S.F.; Monge, 2009)

Las NPs se caracterizan por poseer una relación superficie-volumen alta, que les otorga interesantes propiedades ópticas, magnéticas, electrónicas, catalíticas, biológicas, etc., que además se pueden aplicar en diversas áreas. Por ejemplo, en medicina se utilizan nanopartículas de oro (AuNPs) para la detección temprana de células cancerígenas, de virus de inmunodeficiencia humana (VIH) e incluso Alzheimer; por otro lado, en protección ambiental se adicionan nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2 NPs) en pinturas, las cuales, en presencia de la luz pueden descomponer algunos contaminantes atmosféricos; también, en electrónica se emplean nanopartículas de silicio (SiNPs) para la fabricación de memorias para computadoras, y nanotransistores. Sin embargo, uno de los metales más utilizados para la síntesis de nanopartículas es la plata, de donde se obtienen las nanopartículas de plata (AgNPs). Este elemento metálico es de gran interés ya que por más de 2000 años ha sido reconocido por sus propiedades benéficas en la salud (Gutierrez-Wing, S.F.; Monge, 2009).

Nanopartículas de plata

Las AgNPs son de gran interés para los investigadores, ya que se ha reportado que no presentan toxicidad hacia los humanos, e incluso a muy bajas concentraciones son muy efectivas para combatir bacterias, virus y otros microorganismos eucariotas, esto debido a que son capaces de destruir las membranas bacterianas a través del contacto directo sin producir efectos secundarios, lo que las convierte en excelentes candidatas para aplicarse en cosmética, medicina, agricultura, química y farmacéutica (Mohseniazar *et al.*, 2011; Fernández-Bueno *et al.*, 2017; De Silva *et al.*, 2021; Hanna *et al.*, 2022).

Por otra parte, estas nanopartículas metálicas poseen un alto valor terapéutico debido a su notable potencial antioxidante (Chokshi *et al.*, 2016). Esto se refiere a su capacidad para reducir el daño causado por el estrés oxidativo, el cual es generado por la producción de especies reactivas de oxígeno o nitrógeno que resultan en daño celular. No obstante, es importante resaltar que estas propiedades de las AgNPs dependen en gran medida de las características cristalográficas y morfológicas de la nanopartícula, como el tamaño y la forma, y que estos a su vez, pueden ser influenciados por diferentes métodos de síntesis (Castro *et al.*, 2013).

Para la generación de AgNPs, la síntesis química ha sido ampliamente estudiada y utilizada. Entre los métodos químicos disponibles se encuentran técnicas como la deposición química de soluciones, la ruta catalítica y el proceso sol-gel, por mencionar algunos (Hanna *et al.*, 2022). Estos procedimientos utilizan diferentes productos químicos y reactivos para reducir los iones de plata y estabilizar las nanopartículas. Sin embargo, es importante destacar que estos productos químicos pueden ser tóxicos, ya que se basan en el uso de solventes, reductores y agentes estabilizantes que se absorben en la superficie de las nanopartículas. Esto plantea preocupaciones tanto para la salud humana como para el medio ambiente, puesto que la mayoría de los residuos generados en el proceso son compuestos no biodegradables (Hanna *et al.*, 2022).

Debido a esto, en los últimos años se han buscado alternativas para la obtención de AgNPs que sean más amigables con el medio ambiente. Por lo tanto, ha surgido un enfoque conocido como síntesis verde, proceso que involucra el uso de agentes biológicos u organismos como bacterias, hongos, extractos de plantas y algas para producir NPs; dicha tecnología se caracteriza por aprovechar las capacidades antioxidantes de las plantas o compuestos orgánicos para transformar los iones inorgánicos metálicos en nanopartículas por medio de las capacidades reductoras de los metabolitos y proteínas de estos (De Silva *et al.*, 2020; De La Caridad Esquivel-Figueroa & Mas-Diego, 2021).

Síntesis Verde de AgNPs

En los últimos años se ha reportado la obtención de AgNPs mediante síntesis verde, empleando diferentes organismos. Sin embargo, la síntesis de estos compuestos utilizando algas, microalgas y sus derivados muestra más ventajas sobre otras muestras biológicas como bacterias y hongos (Suja *et al.*, 2016). Las algas son un grupo de organismos autótrofos con importancia ecológica y económica que pueden vivir en diferentes hábitats como agua fresca, agua marina o en superficies de rocas. Existen dos categorías principales de algas:

macroalga (que incluye organismos a nivel macroscópico) y microalga (con microorganismos) (Deeksha-Chugh *et al.*, 2021). Estas últimas han generado mucho interés científico, ya que son consideradas como fábricas celulares a nivel microscópico, son impulsadas por la luz solar y se encuentran en medios acuáticos, además de producir grandes cantidades de lípidos y carbohidratos que pueden ser aprovechados en medicina, farmacéutica, acuicultura, cosmética y en la producción de biocombustibles, biodiesel o bioetanol (Chokshi *et al.*, 2016; Hanna *et al.*, 2022).

Actualmente, el uso de microalgas ha sido poco estudiado en el área de la nanotecnología, sin embargo, en los últimos años ha venido tomando relevancia, debido a su alta capacidad de acumular metales y reducir iones, su relativamente fácil manejo y cultivos económicos, su rápida tasa de crecimiento, una alta eficiencia fotosintética, pero principalmente, su capacidad para producir nanopartículas a gran escala de una manera más rápida y sin producir ninguna sustancia tóxica o dañina para el ambiente (Chokshi *et al.*, 2016). Debido a esto, especies como *Chlorella vulgaris*, *Isochrysis galbana* y *Nannochloropsis oculata* se han utilizado en la síntesis de AgNPs en los últimos años (Suja *et al.*, 2016; Hanna *et al.*, 2022).

Particularmente, se han realizado varios estudios que demuestran la efectividad de la microalga *Nannochloropsis oculata* en la síntesis verde de AgNPs, en ellos se comenta este comportamiento puede explicarse debido a la presencia de diversas biomoléculas en su estructura celular, tales como proteínas, enzimas y ácidos grasos poliinsaturados, mismos que pudieran actuar como agentes reductores y encapsulantes durante la síntesis de NPs (Deeksha-Chugh *et al.*, 2021). Sin embargo, estos estudios se han centrado exclusivamente en el uso de la microalga en su forma completa. La biomasa desgrasada de la microalga, que es el residuo obtenido después de extraer los aceites para la producción de biocombustibles, ha recibido menos atención en la investigación (Chokshi *et al.*, 2016).

Actualmente a nivel mundial se generan alrededor de 20,000 toneladas de biomasa microalgal cada año, y a partir de ella se generan grandes cantidades de un subproducto desgrasado, que usualmente no se aprovecha. Por lo tanto, se ha explorado el potencial de la biomasa residual para su utilización en diferentes aplicaciones y su mejor aprovechamiento (Chokshi *et al.*, 2016). Sin embargo, hasta donde se tiene conocimiento, no existen estudios o investigaciones que hayan examinado específicamente la eficacia de la biomasa desgrasada de *N. oculata* en la síntesis de AgNPs.

Por otro lado, durante la síntesis de NPs, son clave diversos factores que pueden alterar la forma, tamaño y estabilidad de las

nanopartículas, y por tanto sus propiedades, algunos de los más importantes son agitación del reactor y la temperatura a la que se realiza la síntesis, por lo que se han venido desarrollando diversas estrategias para el control de este tipo de proceso (Deeksha-Chugh *et al.*, 2021).

Entre las herramientas más utilizadas en la síntesis verde se encuentran el calentamiento asistido por microondas y la agitación/calentamiento directo (Deeksha-Chugh *et al.*, 2021). Si bien ambos enfoques han sido estudiados y reportados anteriormente, se ha observado que el calentamiento asistido por microondas presenta ventajas, como una mayor velocidad de reacción y la prevención de la aglomeración de las AgNPs. Por lo tanto, resulta interesante comparar ambos métodos de calentamiento y determinar cuál de ellos es más eficaz en la formación de las nanopartículas utilizando las diferentes presentaciones de *N. oculata*.

El propósito de esta investigación fue realizar una comparación en la formación de AgNPs mediante un diseño experimental 2x2, analizando dos variables: 1- el tipo de biomasa de microalga (con los niveles de biomasa completa y desgrasada) y 2- el tipo de calentamiento (probando calentamiento/agitación y asistencia por microondas). El objetivo fue determinar cuál de las combinaciones resulta más efectiva y ofrece mejores resultados en la síntesis de nanopartículas de plata.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de biomasa microalgal

Para la obtención de la microalga se recolectó biomasa de *Nannochloropsis oculata* cultivada en un fotobiorreactor de 80 L, utilizando un medio de crecimiento F/2 a la que posteriormente se le realizó extracción de aceite para la obtención de biomasa desgrasada.

Síntesis de AgNPs

Para la obtención de las nanopartículas, primero se elaboró un extracto acuoso de biomasa (completa y desgrasada) mezclando 1 g de ésta con 50 mL de agua destilada, calentando a 70 °C por 5 min y después filtrándose con papel filtro de celulosa. Ambos tipos de extractos fueron recolectados y almacenados por separado a 4 °C para su posterior uso.

Síntesis verde por calentamiento con agitación

Para la síntesis de AgNPs, se mezclaron 12.5 mL del extracto de biomasa completa con 12.5 mL de AgNO₃ al 2 mM. Esta solución se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. La reducción de los iones de Ag⁺ fue monitoreada por cambio de color (de verde a amarillo ámbar

o marrón) y espectroscopia UV-vis. La Figura 3 muestra los cambios de color que se presentaron en las primeras pruebas de calentamiento. Las AgNPs obtenidas se almacenaron en frascos color ámbar para protegerse de la luz y se mantuvieron a 4 °C para su posterior caracterización. El mismo procedimiento se repitió con el extracto de biomasa desgrasada.

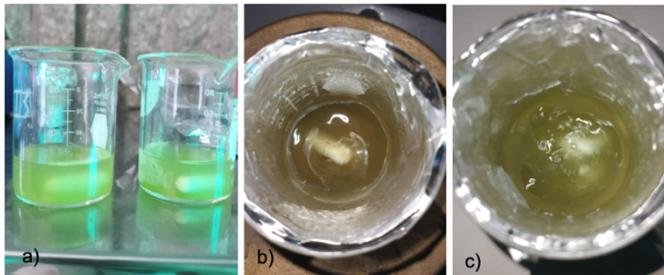


Figura 1. Esquema que muestra los cambios de color durante la síntesis. a) Color inicial de ambas soluciones b) Solución con agitación y calentamiento a 50 °C después de 6 horas c) Solución con agitación a temperatura ambiente después de 6 horas.

Síntesis verde con calentamiento asistido por microondas

Se utilizó un microondas (White Westinghouse®, Ohio, Estados Unidos) para calentar una solución de 12.5 mL de extracto de biomasa completa y 12.5 mL de AgNO₃ 2 mM, aplicando ciclos de 10 s a 40 W de potencia hasta observar cambio de color característico de la reducción de los iones de Ag⁺ (Figura 2). Al igual que las AgNPs obtenidas por agitación, las NPs obtenidas se almacenaron en frascos color ámbar para protegerse de la luz y se mantuvieron a 4°C para su posterior caracterización. El mismo procedimiento se repitió con el extracto de biomasa desgrasada.

Caracterización espectrofotométrica

Para la caracterización y estudio de las propiedades de las nanopartículas generadas, se realizó un análisis por espectrofotometría utilizando un Espectrofotómetro UV-Vis (Thermo-Scientific® Modelo GENESYS 10s, Madison, Wisconsin, EE. UU.) para evaluar la absorbancia de cada una de las muestras obtenidas, mediante un barrido en el rango de longitud de onda que osciló entre 350 y 800 nm. Se empleó el extracto de biomasa inicial como blanco de referencia. Este análisis desempeña un papel crucial al permitir la identificación de la presencia de NPs y proporciona un panorama general sobre su forma y distribución de manera sencilla y económica, se ha reportado que es recomendable realizar la caracterización por espectrofotometría, antes de llevar a cabo análisis más costosos, como la microscopía electrónica. De esta manera, dicho enfoque permite obtener información relacionada con las dimensiones,

configuración y distribución de las nanopartículas de plata (Morales *et al.*, 2009; De Silva *et al.*, 2020).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización espectrofotométrica de las AgNPs

Se logró la generación de nanopartículas de plata mediante síntesis verde utilizando dos tipos de biomasa de la microalga *Nannochloropsis oculata*: completa y desgrasada; además, se emplearon dos métodos de calentamiento: agitación a temperatura ambiente y asistencia por microondas.

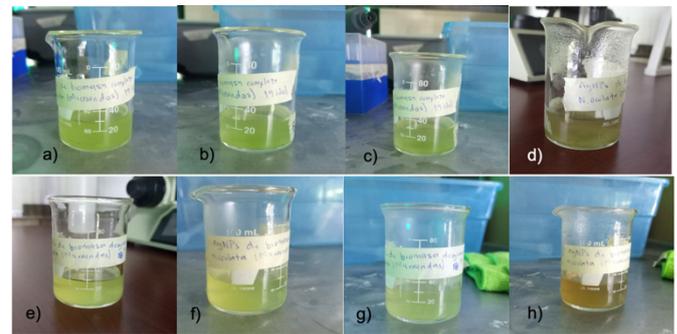


Figura 2. Evolución del color de la solución de biomasa a través de cada uno de los ciclos en el microondas. Biomasa completa: a) Color inicial. b) Primer ciclo. c) Segundo ciclo. d) Tercer ciclo. Biomasa desgrasada: e) Color inicial. f) Primer ciclo. g) Segundo ciclo. h) Tercer ciclo

AgNPs generadas con agitación a temperatura ambiente.

La Figura 3A muestra el patrón de absorbancia de las AgNPs obtenidas a partir de biomasa completa mediante calentamiento por agitación a temperatura ambiente, donde se puede confirmar la presencia de AgNPs. Se observa una curva de absorción en el rango de 350-500 nm. Por otro lado, la Figura 3b representa el espectro de absorción de las AgNPs obtenidas a partir de biomasa desgrasada bajo el mismo método de calentamiento que la muestra anterior, manifestando de la misma manera presencia de nanopartículas, evidenciada por la absorción entre 350-500 nm.

AgNPs generadas con calentamiento asistido por microondas

Siguiendo con el análisis, se analizó el patrón de absorbancia de las muestras de AgNPs obtenidas mediante calentamiento asistido por microondas que se caracteriza por acelerar el proceso de síntesis (Figura 4). Para la biomasa completa se confirmó la presencia de AgNPs dispersas de diversas formas y un tamaño considerable, evidenciado por el pico de alta absorbancia en el rango de 350-430 nm (Figura 4A).

Finalmente, la Figura 4B presenta los resultados del análisis de las AgNPs generadas a partir de biomasa desgrasada mediante la síntesis asistida con microondas, en la que también se evidencia la presencia de NPs de diversas formas y tamaños, las cuales se mantienen igualmente dispersas en la solución. Este hallazgo se confirma, en primer lugar, por la presencia de absorción entre 350-500 nm y un pico principal en 350 nm que, en este caso, se extiende hasta 430 nm.

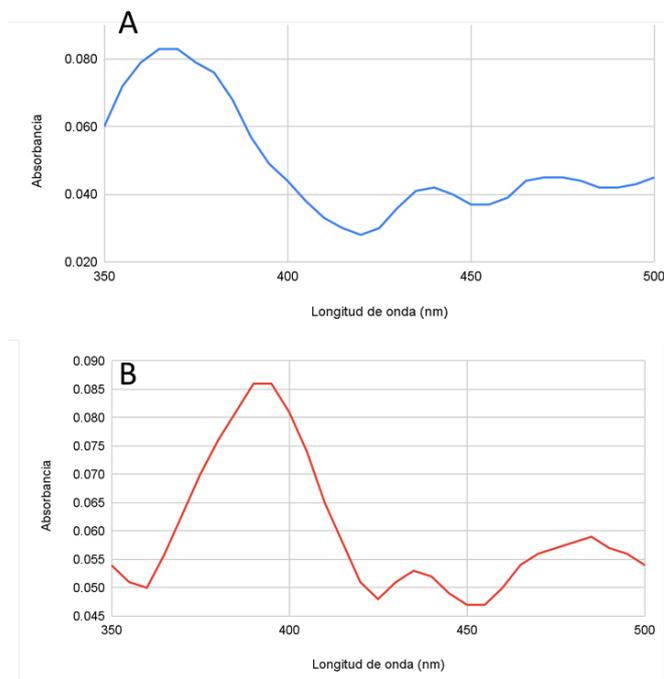


Figura 3: Espectro UV-vis de AgNPs sintetizadas por el método de agitación a temperatura ambiente. A: con biomasa completa; B: con biomasa desgrasada

DISCUSIÓN

AgNPs generadas con agitación a temperatura ambiente.

En cuanto a las AgNPs obtenidas a partir de biomasa completa mediante calentamiento por agitación a temperatura ambiente (Figura 3A), al observarse una curva de absorción en el rango de 350-500 nm, se comprueba la presencia de AgNPs, como previamente se ha documentado en la literatura (Morales *et al.*, 2009; Chokshi *et al.*, 2016). Se puede sugerir la presencia de nanopartículas de diferentes formas y tamaños. Esto es representado por el pico que se encuentra entre los 350-400 nm. Además, por la amplitud de dicho pico, se infiere que estas nanopartículas están dispersas en la solución y no hay indicios de aglomeración. Por otro lado, la presencia de otras bandas de absorción antes de los 450 nm, indican la presencia de NPs esféricas. Las NPs esféricas exhiben una absorción máxima entre 420 y 440 nm, siendo la óptima en 420 nm (De Silva *et al.*, 2020), esto concuerda con lo reportado por Suber *et al.* (2005), donde reportaron

la presencia de nanopartículas con forma esférica con absorciones entre 390 y 440 nm. La presencia de un pequeño pico alrededor de 440 nm, puede sugerir la presencia de NPs esféricas estables y de gran tamaño. Sin embargo, estas NPs se encuentran en una proporción mucho más pequeña a las NPs de diferentes formas y tamaños explicadas con anterioridad. Por último, la presencia de absorción más allá de los 450 nm indica la presencia de nanopartículas significativamente más grandes que el resto. Esto coincide con lo reportado por De Silva *et al.* (2020), donde mediante análisis de UV-vis detectaron la presencia de nanopartículas de plata utilizando el microorganismo *Serratia sp.*, los autores reportan que picos arriba de 440 nm indican la presencia de nanopartículas de tamaño grande mientras que picos entre 380 y 440 nm se traduce en presencia de nanopartículas finas y redondas.

Por otro lado, para las AgNPs obtenidas a partir de biomasa desgrasada mediante el mismo método de calentamiento, el pico que se observa entre 360-430 nm tiene una absorción y amplitud similar al obtenido con la biomasa completa, lo que sugiere que se formaron cantidades similares de nanopartículas dispersas de diferentes formas y tamaños (Morales *et al.*, 2009; Suber *et al.*, 2005; De Silva *et al.*, 2020). Además, la presencia del pequeño pico alrededor de 440 nm indica la presencia de NPs esféricas estables de la misma manera que exhibía la biomasa completa. Sin embargo, la biomasa desgrasada presenta picos más definidos y estables que la biomasa completa lo que podría indicar que la biomasa desgrasada tiende a formar nanopartículas más estables. Se ha reportado que picos más definidos están relacionados con una tensión superficial más alta, lo que ocasiona una fuerza de cohesión mayor entre las nanopartículas lo que se traduce en una mayor estabilidad de estas (Morales *et al.*, 2009; Suber *et al.*, 2005).

AgNPs generadas con calentamiento asistido por microondas.

En cuanto al patrón de absorbancia de las AgNPs obtenidas mediante calentamiento asistido por microondas (Figura 4A) se observó un pico de absorbancia máxima en el rango de 350-430 nm. Es importante mencionar que la absorbancia de los picos está estrechamente relacionada con el tamaño de las NPs y que este tiende a ser mayor cuando la absorbancia aumenta (Suber *et al.*, 2005). Es posible que este incremento se deba al método de calentamiento y su tendencia a aumentar la temperatura de manera abrupta y a su vez, inducir la aglomeración de NPs. Esto se puede deber al aumento de la energía superficial y la interacción entre partículas, lo que lleva a la formación de grupos o aglomerados (De Silva *et al.*, 2020). Este comportamiento ha sido bien documentado por Suber *et al.* (2005), donde se

desarrollaron nanopartículas de plata y se reporta que su morfología y la estabilidad se relaciona con los métodos de síntesis de soluciones homogéneas de nanopartículas.

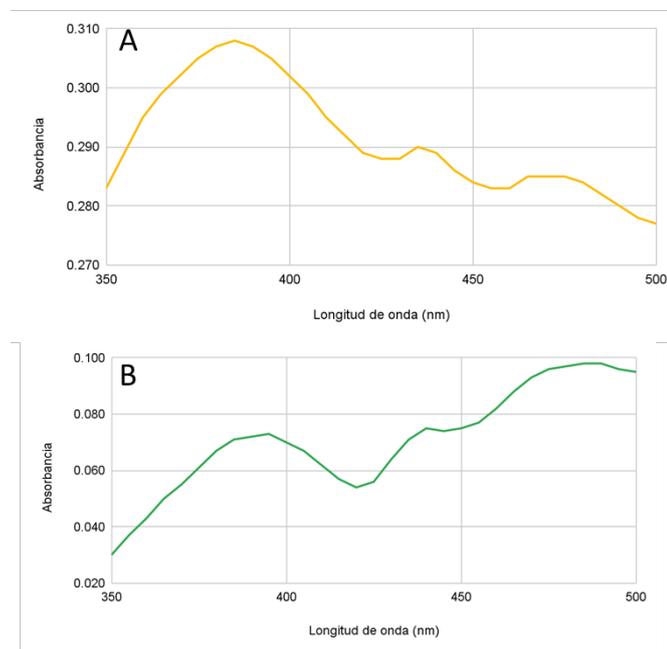


Figura 4: Espectro UV-vis de AgNPs sintetizadas por el método de calentamiento asistido por microondas. A: con biomasa completa; B: con biomasa desgrasada.

Finalmente, en cuanto a las AgNPs generadas a partir de biomasa desgrasada mediante la síntesis asistida con microondas (Figura 4B), su patrón de absorción refleja una variabilidad en la que también se evidencia la presencia de NPs de formas y tamaños heterogéneos. No obstante, este último pico observado presenta una absorción menor, lo que sugiere que las nanopartículas son de un tamaño más reducido en comparación con las obtenidas a partir de biomasa completa. Además, se detectan NPs esféricas, como se evidencia en el pico de 440 nm, el cual es ligeramente más grande que el primero. Esto podría indicar que la presencia de nanopartículas esféricas y otras NPs de mayor tamaño (pico más allá de los 450 nm) se encuentran aproximadamente en mayor proporción que las NPs de diferentes formas y tamaños, estos resultados coinciden con lo reportado por otros autores (Morales *et al.*, 2009; Suber *et al.*, 2005; De Silva *et al.*, 2020).

CONCLUSIONES

El uso de biomasa de *Nannochloropsis oculata* en ambas de sus presentaciones demuestra un buen potencial en la síntesis verde de AgNPs. En cuanto al método de calentamiento, se observó que la agitación a temperatura ambiente resultó ser el método más adecuado

para obtener AgNPs de mayor uniformidad, mejor distribución y mayor dispersión en contraste con el calentamiento asistido por microondas, que condujo a la formación de nanopartículas más grandes y aglomerados.

Por otra parte, se encontró que los diferentes tipos de biomasa utilizada presentan resultados similares durante la síntesis. Sin embargo, la extracción de los aceites para la obtención de la biomasa desgrasada pudiera eliminar algunos componentes celulares, concentrando el contenido de polifenoles o algunas proteínas, compuestos que pudieran facilitar la reducción de los iones de Ag, así como el encapsulamiento de las NPs.

Además, se encontró que la combinación más adecuada para la síntesis de AgNPs a partir de la microalga *Nannochloropsis oculata* fue la biomasa desgrasada con agitación a temperatura ambiente, ya que en el análisis espectrofotométrico se observaron picos más definidos y estables. Esto pudo ser debido al control más preciso del incremento en la temperatura, lo que llevó a una reacción más uniforme de los reactivos involucrados en la síntesis, así como a la remoción de ciertos componentes encontrados en la biomasa completa (como los aceites). Es importante mencionar que estos resultados son convenientes como una manera de aprovechar la biomasa residual de microalgas que se genera en la producción de biocombustibles (biomasa desgrasada), además, los estudios espectrofotométricos realizados generan un panorama inicial de la forma y tamaño de las nanopartículas generadas, se recomienda realizar análisis microscópicos más finos, como microscopía electrónica de transmisión, microscopía electrónica de barrido, espectroscopia infrarroja transformada de Fourier, entre otras, para realizar una caracterización más precisa de las AgNPs.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimiento a la Dra. Karla Paola Valdez Nuñez, a la Dra. Gissel Rios y al laboratorio de compuestos bioactivos de UPSIN por el apoyo con equipamiento para la realización de los experimentos, así como a la MC Andrea de Jesús Gárate Osuna que aportó la biomasa utilizada en el trabajo.

Declaración de conflicto de interés

Los autores declaran que no existe conflicto de interés con el contenido del presente trabajo.

REFERENCIAS

- Castro, L., Blázquez, M., Muñoz, J., González, F. and Ballester, A. (2013). Biological synthesis of metallic nanoparticles using algae. *Int Nanobiotechnology*, 7(3), 109-116. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2012.0041>
- Chokshi, K., Pancha, I., Ghosh, T., Paliwal, C., Maurya, R., Ghosh, A. and Mishra, S. (2016). Green synthesis, characterization and antioxidant potential of silver nanoparticles biosynthesized from de-oiled biomass of thermotolerant oleaginous microalgae *Acutodesmus dimorphus*. *RSC Advances*, 6(76), 72269-72274. <https://doi.org/10.1039/c6ra15322d>
- De Silva, C., Noor, A. A. M., Karim, M., Gunasekaran, B., Gani, S. A., Cabrera, M. and Ahmad, S. A. (2020). The green synthesis and characterisation of silver nanoparticles from *Serratia* SPP. *Revista Mexicana De Ingeniería Química*, 19(3), 1327-1339. <https://doi.org/10.24275/rmiq/bio1059>.
- Deeksha-Chugh, V.S. Viswamalya, Bannhi Das. (2021) Green synthesis of silver nanoparticles with algae and the importance of capping agents in the process, *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19 (1), 1-21. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00228-w>.
- De La Caridad Esquivel-Figueroa, R. and Mas-Diego, S. M. (2021). Síntesis biológica de nanopartículas de plata: revisión del uso potencial de la especie *Trichoderma*. *Revista Cubana de Química*, 33(2), 23-45. <http://scielo.sld.cu/pdf/ind/v33n2/2224-5421-ind-33-02-23.pdf>
- Fernández-Bueno, T. (2017). Estudio de las aplicaciones biomédicas de las nanopartículas de plata [Trabajo de Fin de Grado Farmacología]. Universidad de Sevilla.
- Gómez-Garzón, M. (2018). Nanomateriales, nanopartículas y síntesis verde. *Revista Repertorio de Medicina y Cirugía*. Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud – FUCS. Disponible en: <https://revistas.fucsalud.edu.co/index.php/repertorio/artic/e/view/191/209#info>. Accesado 23 de Enero de 2024.
- Gutiérrez-Wing, C. E. (s. f.). Las nanopartículas: pequeñas estructuras con gran potencial ¿Por qué el interés en estos materiales? ¿Qué aplicaciones tienen? EL INNIN hoy. Disponible en <https://docplayer.es/14743940-Las-nanopartículas-pequeñas-estructuras-con-gran-potencial.html>. Accesado: 23 de enero, 2023.
- Hanna, A. L., Hamouda, H. M., Goda, H. A., Sadik, M. W., Moghanm, F. S., Ghoneim, A., Alenezi, M. A., Alhomasy, S. F., Alam, P. and Elsayed, T. A. (2022). Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles produced by *Phormidium ambiguum* and *Desertifilum tharense* Cyanobacteria. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, 2022, 1-14. <https://doi.org/10.1155/2022/9072508>
- Mohseniazar, M., Barin, M., Farajnia, S., Alizadeh, S. and Shanehbandi, D. (2011). Potential of microalgae and lactobacilli in biosynthesis of silver nanoparticles. DOAJ (DOAJ: Directory of Open Access Journals). <https://doi.org/10.5681/bi.2011.02>
- Monge, M. (2009). Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. *Anales de la Real Sociedad Española de Química*, 105(1), 33-41. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/2931286.pdf>
- Morales, J., Moran, J., Quintana, M. and Estrada, W. (2009). Synthesis and characterization of silver nanoparticles by sol-gel route from silver nitrate; Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata por la ruta sol-gel a partir de nitrato de plata. *Rev. Soc. Quím. Perú*. 75(2):177-184. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2009000200004
- Suber, L., Sondi, I., Matijević, E. and Goia, D.V. (2005). Preparation and the of formation of silver particles of different morphologies in homogeneous solutions. *Journal of Colloid and Interface Science*. 288: 489-495. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2005.03.017>
- Suja, C. P., Senthil, S. L., Anu Priya, S., Shiny Preethi, M. and Renu, A. (2016). Optimization and characterization of silver nanoparticle synthesis from the microalgae, *Isochrysis galbana*. *Bioscience Biotechnology Research Communications*. 9(2):195-200. ISSN: 2321-4007. http://eprints.cmfri.org.in/12858/1/C%20P%20Suja_2016_Bioscience%20Biotechnology%20Research%20Communications_Optimization%20and%20characterization%20of%20silver%20nanoparticle%20synthesis.pdf.

Prevención del oscurecimiento enzimático de rebanadas de manzana por efecto de un tratamiento hidrotérmico, N-acetilcisteína y cloruro de calcio

Prevention of enzymatic browning of apple slices by effect of hydrothermal treatment, N-acetylcysteine and calcium chloride

Chaidez-Gastelum, D.C.¹, Costich-Costich, G.¹, Ayón-Reyna, L.E.¹, López-Velázquez, J.G.¹, García-Armenta, E.¹, Vega-García, M.O.^{1*}

¹Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Cd. Universitaria, Av. De las Américas y Josefa Ortiz, Culiacán, Sinaloa, 80010, México.

RESUMEN

El procesamiento mínimo de la manzana favorece el oscurecimiento enzimático. La aplicación de un tratamiento hidrotérmico (TH) combinado con antioxidantes y sales de calcio pudiera ser un tratamiento prometedor para solucionar este problema. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de un TH combinado con N-acetilcisteína (NAC) y cloruro de calcio (CaCl_2) sobre la calidad poscosecha y la actividad de enzimas relacionadas al oscurecimiento de rebanadas de manzana cv. Granny Smith. La fruta entera fue sometida a un tratamiento hidrotérmico (TH, 45 °C x 10 min), para posteriormente rebanarse y sumergirse durante 3 min en la solución de N-acetilcisteína y cloruro de calcio (NAC- CaCl_2). Enseguida, las rebanadas tratadas fueron empacadas en charolas de polietileno y almacenadas a 4 °C durante 24 días. Se realizaron retiros del almacenamiento cada 6 días y se evaluaron las concentraciones de O_2 y CO_2 dentro del envase, así como firmeza, color, fenoles totales y la actividad de polifenoloxidas (PPO) y peroxidasa (POD). Los resultados mostraron que la aplicación del tratamiento hidrotérmico combinado con N-acetilcisteína y cloruro de calcio (TH+NAC- CaCl_2) fue efectiva para mantener el color de las rebanadas de manzana y el contenido de fenólicos totales durante todo el almacenamiento; además, redujo la actividad de PPO y de POD durante el almacenamiento a 4 °C. El tratamiento TH+NAC- CaCl_2 puede ser empleado de manera efectiva para disminuir el oscurecimiento enzimático de rebanadas de manzana, ya que conserva su color original y mantiene los parámetros de calidad por 24 días.

PALABRAS CLAVES: *Manzana mínimamente procesada, Tratamiento hidrotérmico, Sales de calcio, Antioxidantes.*

ABSTRACT

Minimal processing of apple promotes enzymatic browning. The application of a hydrothermal treatment (HT) combined with antioxidants and calcium salts could be a promising treatment to solve this problem. The aim of the present study was to evaluate the effect of a hydrothermal treatment combined with N-acetylcysteine and calcium chloride (CaCl_2) on the postharvest quality and the activity of enzymes related to the darkening of apple slices cv. Granny Smith. The whole fruit was subjected to a hydrothermal treatment (HT, 45 °C x 10 min), then sliced and immersed for 3 min in the solution of N-acetylcysteine and calcium chloride (NAC- CaCl_2). Then, the treated slices were packed in polymer trays and stored at 4 °C for 24 days. Withdrawals were made from storage every 6 days and the concentrations of O_2 and CO_2 inside the container, firmness, color, total phenols, and polyphenoloxidase (PPO) and peroxidase (POD) activities were evaluated. The results showed that the application of HT + NAC- CaCl_2 was effective in maintaining the internal color of apple slices and the total phenolic content. The treatment was also useful to reduce PPO and POD activity during storage at 4 °C. TH+NAC- CaCl_2 treatment can be used effectively to reduce the enzymatic darkening of apple slices since it preserves its original color and maintains quality parameters for 24 days.

KEYWORDS: *Minimally processed apple, hot water treatment, calcium salt, antioxidants.*

*Autor de correspondencia: Misael Odín Vega García

E-mail: mvega6@yahoo.com

ORCID ID: [0000-0003-4122-2454](https://orcid.org/0000-0003-4122-2454)

Registro ORCID Autores: DCC: [0009-0000-3184-5952](https://orcid.org/0009-0000-3184-5952), LDA: [0000-0001-7150-8846](https://orcid.org/0000-0001-7150-8846), JGL: [0000-0002-0901-5984](https://orcid.org/0000-0002-0901-5984), EG: [0000-0001-7219-9221](https://orcid.org/0000-0001-7219-9221) MOV: [0000-0003-4122-2454](https://orcid.org/0000-0003-4122-2454)

Revista online: <https://revistas.uas.edu.mx/index.php/QBU/index>

INTRODUCCIÓN

Los frutos mínimamente procesados, también llamados frescos cortados, son productos listos para consumir que proporcionan beneficios a la salud, y han sido cambiados físicamente de su estado natural mediante un procesamiento mínimo, como el cortado, pelado, triturado o rebanado (Ayón-Reyna *et al.*, 2019). Las manzanas frescas cortadas, en particular, son empleadas como un refrigerio conveniente para los servicios de catering en bares de ensaladas, escuelas y cafeterías de empresas. Sin embargo, tienen una vida útil corta, reflejada en la pérdida de parámetros de calidad como color, firmeza, jugosidad, sabor y pérdida excesiva de humedad (Yousuf, Qadri y Srivastava, 2018).

En los frutos procesados en fresco se daña el tejido vegetal, lo que frecuentemente inicia una secuencia de actividades respiratorias, metabólicas y enzimáticas que llegan a disminuir su calidad. Un ejemplo es la actividad de enzimas como polifenol oxidasa (PPO) y peroxidasa (POD), las cuales producen el oscurecimiento de los frutos. Por otro lado, la β -galactosidasa, la poligalacturonasa (PG) y la pectinmetilesterasa (PME) pueden provocar modificaciones en la pared celular, disminuyendo la firmeza (Giannakourou & Tsironi, 2021).

Para prevenir o retrasar estos cambios no deseables en los frutos mínimamente procesados, se hace uso de diferentes compuestos como los tioles, que son compuestos con el grupo funcional sulfhidrilo (-SH), tales como glutatión, L-cisteína y N-acetilcisteína, que actúan como inhibidores del oscurecimiento enzimático (Cerit *et al.*, 2020). Por otro lado, los tratamientos hidrotérmicos son una técnica segura que induce respuestas de defensa en las frutas y hortalizas cosechadas, y se utilizan como método de control del oscurecimiento en frutos ya que la temperatura puede inhibir la actividad de PPO y POD (Rodríguez-Arzuaga y Piagentini, 2019). A su vez, la aplicación de calcio en la etapa poscosecha de los frutos logra extender su vida de almacenamiento, resaltando su capacidad de mantener la firmeza, reducir la incidencia de enfermedades por patógenos y la prevención del desarrollo de trastornos fisiológicos. Es por ello que el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de un tratamiento hidrotérmico y la inmersión de rebanadas de manzana cv. Granny Smith en una solución de N-acetilcisteína (NAC) y cloruro de calcio (CaCl_2) sobre la calidad poscosecha y la actividad de enzimas relacionadas al oscurecimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Las manzanas (*Malus domestica*) variedad "Granny Smith" se obtuvieron del mercado de abastos de la ciudad de Culiacán, Sinaloa, México. La fruta se seleccionó cuidadosamente con base en la uniformidad de tamaño, color y firmeza, evitando aquellas que tuvieran golpes o magulladuras, así como pudriciones. Los reactivos N-acetilcisteína y CaCl_2 se obtuvieron de Sigma-Aldrich (Estado de México, México).

Métodos

Aplicación de los tratamientos

Las manzanas fueron lavadas y sumergidas en una solución de hipoclorito de sodio (100 $\mu\text{L/L}$) durante 3 min. Posteriormente, la fruta fue sometida a un tratamiento hidrotérmico (45 °C x 10 min) de acuerdo con lo reportado por López-López *et al.* (2013), y luego se colocó en un recipiente con agua a 21 °C por 5 min para su enfriamiento. Después, se procedió al rebanado y descorazonado utilizando cuchillos comerciales afilados. Las rebanadas de 1 cm de espesor fueron sumergidas en la solución NAC (0.05 M) y CaCl_2 (5 g/L) a una temperatura de 4 °C por un periodo de 3 min, posteriormente se les retiró el exceso de solución con la ayuda de papel absorbente. Las rebanadas fueron pesadas para formar grupos de 90-120 g, se colocaron dentro de charolas de polietileno y se cubrieron con película plástica para crear una atmósfera modificada pasiva. Todo el proceso de elaboración y almacenamiento se realizó a 4 °C. La fruta rebanada se almacenó por 24 días y se realizaron retiros cada 6 días para los respectivos análisis.

Análisis de gases

Para la determinación de la concentración de los gases (O_2 y CO_2) en el interior de las charolas se utilizó un analizador de gases dual modelo GCS-150 Gas Control Systems (Sparta, Michigan, EUA). A través del septo colocado en la charola se introdujo la aguja del analizador, la cual permitió hacer la medición durante 30 s manteniendo la atmósfera modificada. Se realizaron 3 mediciones por tratamiento cada 6 días de evaluación durante 24 días (Ayón-Reyna *et al.*, 2019).

Firmeza

La pérdida de firmeza se evaluó de acuerdo con la metodología reportada por López-López *et al.* (2013) con algunas modificaciones, empleando un medidor de textura Chatillon Ametek E-DFE 100 (California, EUA) equipado con una punta plana de 11 mm de diámetro a una velocidad de penetración constante (50 mm/min). Se penetró en el centro de cada rebanada de manzana a una profundidad de 5 mm aproximadamente. La prueba se realizó 9 veces por cada tratamiento. Los resultados se reportaron como la fuerza de compresión máxima necesaria para penetrar el tejido del fruto, expresada en Newtons.

Color

El color se evaluó en la superficie de las rebanadas de manzana donde se utilizó un colorímetro Minolta CR-200 (Osaka, Japón). Se midieron los parámetros de color L^* y a^* , donde L^* corresponde a la luminosidad de la muestra (100 representa el blanco y 0 el negro) y el valor negativo y positivo de a^* indica una coloración verde a roja, respectivamente (López-López *et al.*, 2013)

Fenoles totales

Los fenoles totales se determinaron siguiendo la metodología reportada por Ayón-Reyna *et al.* (2019) con algunas modificaciones. Se homogenizaron 5 g de pulpa de manzana con 10 mL de metanol al 80% por 1 min en un homogenizador Ultra-Turrax T25 (Carolina del Norte, EUA). La muestra homogenizada se sonicó por 10 min. Posteriormente se filtró con papel Whatman #1 para ser centrifugada a 4,000 rpm por 30 min a 4 °C. Enseguida, se realizó una decantación y el sobrenadante se reservó. Con la pastilla formada se realizó una segunda extracción repitiendo los mismos pasos que en la primera extracción. Finalmente, se recolectaron y mezclaron los sobrenadantes de las dos extracciones, para posteriormente ser aforado con metanol al 80%. Del extracto diluido se tomaron 20 μ L y se adicionaron 1.58 mL de agua desionizada y 100 μ L del reactivo Folin-Ciocalteu 1 N, se agitó y se dejó reposar por 5 min. Posteriormente, se le adicionaron 300 μ L de Na_2CO_3 al 20%, se agitó y se incubó por 30 min a 40°C, después se midió la absorbancia a 740 nm con un espectrofotómetro Único SQ-2800 UV/VIS (Dayton, Nueva Jersey, EUA). Los resultados se expresaron como mg de ácido gálico/100 gramos de fruto fresco (gff).

Extracción y análisis de polifenoloxidasas (PPO)

Se determinó la actividad específica de la enzima PPO de acuerdo con la metodología empleada por López-López *et al.* (2013) con algunas

modificaciones. Para llevar a cabo la extracción de la PPO, se pesaron 5 g de muestra y se homogenizaron con 5 mL de amortiguador de fosfato de potasio 0.05 M (pH 7) por 1 min a velocidad constante de 14,000 xg utilizando un Ultra-Turrax T25 (Carolina del Norte, EUA). El homogenizado se filtró con 4 capas de tela de organza para obtener el extracto enzimático crudo. La reacción se llevó a cabo mezclando 900 μ L de amortiguador de fosfato de potasio 0.05 M (pH 7) + 500 μ L de amortiguador de citrato 0.1 M (pH 4) + catecol 0.2 M (pH 4) (disuelto en el amortiguador de citrato) + 100 μ L de extracto enzimático y se registraron los cambios de absorbancia a 400 nm cada 10 s durante 5 min utilizando un espectrofotómetro UNICO SQ-2800 UV/VIS (Dayton, Nueva Jersey, EUA). El blanco se preparó de manera similar, pero sin agregar extracto enzimático. La concentración de proteína se determinó de acuerdo con el método descrito por Bradford (1976) empleándose albúmina de suero de bovino (BSA) como estándar de calibración a 595 nm. La unidad de actividad (UA) se definió como el cambio de 0.001 unidades de absorbancia/min. Los resultados se expresaron como UA/mg de proteína.

Extracción y análisis de peroxidasa (POD)

Se determinó la actividad específica de la enzima POD de acuerdo con la metodología empleada por López-López *et al.* (2013) con algunas modificaciones. Para la extracción de la enzima se utilizaron 10 g de pulpa de rebanadas de manzana y se homogenizaron por 1 min con 20 mL de amortiguador de fosfato de sodio 0.05 M (pH 7) + 2 g de polivinil polipirrolidona (PVPP). Una vez homogenizado, se dejó reposar por 2 h en oscuridad a temperatura de 4 °C. Transcurrido el tiempo, se filtró con 4 capas de tela organza y se midió el sobrenadante (volumen inicial). Se tomó una alícuota de 2 mL, se centrifugó a 11,000 xg por 25 min a 4 °C empleando una centrifuga Eppendorf modelo 5804-R (Hamburgo, Alemania), y el sobrenadante se recolectó y se le midió el volumen. Posteriormente, se tomó 1 mL y se saturó al 70% con sulfato de amonio $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ sólido. Una vez hecho esto, se llevó a una segunda centrifugación (11,000 xg a 25 min a 4 °C). La pastilla que se obtuvo fue disuelta en 1.5 mL de amortiguador de fosfato de sodio 0.05 M (pH 7).

Para la medición de la actividad de la POD se registró el cambio de absorbancia con base en la oxidación del sustrato fenólico guayacol a 25 °C. Se tomaron 150 μ L del extracto enzimático + 2,700 μ L del amortiguador de fosfato de sodio 0.2 M (pH 6.5) con 0.1 mL de H_2O_2 al 1% + 150 μ L de guayacol al 4%. La absorbancia fue leída a 470 nm cada 10 s por 3 min empleando un espectrofotómetro UV-VIS UNICO SQ-2800 UV/VIS (Dayton, Nueva Jersey, EUA). El blanco se preparó de manera similar sin aplicación del extracto enzimático. La

concentración de proteína se determinó de acuerdo con el método descrito por Bradford (1976) donde se empleó albúmina de suero de bovino (BSA) como estándar de calibración a 595 nm. La unidad de actividad (UA) se definió como el cambio de 0.001 unidades de absorbancia/min. Los resultados se expresaron como UA/mg de proteína.

Análisis estadístico

El análisis de los datos se realizó utilizando un diseño de 2 factores: tipo de procesamiento (control, TH, NAC-CaCl₂ y TH + NAC-CaCl₂) y días de almacenamiento (0, 6, 12, 18 y 24). Se consideró una charola como una unidad experimental. Se utilizaron 2 unidades experimentales por tratamiento con 8 repeticiones para firmeza y color, mientras que para contenido fenólico y actividad enzimática se utilizaron 3 repeticiones. Para la concentración de gases (O₂ y CO₂) se tomaron 4 repeticiones por tratamiento. El ANOVA fue calculado considerando el tipo de procesamiento y los días de almacenamiento con la ayuda del paquete estadístico STATGRAPHICS plus 5.1. La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Fisher con un nivel de significancia del 0.05. La elaboración de los gráficos se realizó utilizando el programa SigmaPlot 7.0 (2001).

RESULTADOS

Análisis de gases

Composición de O₂ dentro del envase

Al día 0, la concentración de O₂ promedio para todos los lotes fue de 19.12% (DE=0.85). Durante los primeros 12 días de almacenamiento, este valor fue disminuyendo para todos los tratamientos, en donde las rebanadas de manzana control presentaron los niveles más bajos de O₂ (Figura 1a). A pesar de esto, durante todo el almacenamiento, no se presentaron diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos.

Composición de CO₂ dentro del envase

Se puede observar que las charolas conteniendo la fruta presentaron una concentración inicial de CO₂ de 0.725% en todos los lotes, la cual fue aumentando conforme pasaban los días de almacenamiento, acumulándose más rápidamente en frutos control y TH y en menor proporción en frutos tratados con NAC-CaCl₂ y TH+NAC-CaCl₂ (Figura 1b).

Firmeza

Las rebanadas de manzana tuvieron una firmeza inicial promedio de 52.84 N (DE=4.77), la cual se mantuvo casi constante durante los primeros 6 días de almacenamiento sin presentar diferencia

estadística significativa entre los tratamientos (Figura 2a). Fue a partir del día 12 en el que se detectaron diferencias, donde los frutos tratados con TH+NAC-CaCl₂ obtuvieron los valores de firmeza más altos significativamente ($p \leq 0.05$) durante todo el almacenamiento, llegando a alcanzar los 55.00 N. Las rebanadas de manzana tratadas con NAC-CaCl₂ tuvieron valores significativamente más altos ($p \leq 0.05$) que el control solamente los días 12 y 18.

Color

Luminosidad (L*)

A partir del día 6 de almacenamiento se empezaron a registrar diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en los valores de L* entre los tratamientos, siendo los frutos tratados con la combinación TH+NAC-CaCl₂ quienes presentaron los niveles más altos a lo largo del estudio, con un valor inicial de 80.2 y un valor máximo de 81.4 al día 12 (Figura 2b). Los tratamientos TH y NAC-CaCl₂ también lograron conservar la luminosidad de los frutos, aunque en menor grado que la combinación, mostrando valores más altos que aquellos de las rebanadas de manzana control.

Parámetro a*

Al inicio del estudio, el valor promedio de a* fue -5.51 para todos los frutos (Figura 2c). Las diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$) se identificaron a partir del día 6 entre los frutos control y los tratados con NAC-CaCl₂ y TH+NAC-CaCl₂, en donde los frutos tratados con NAC-CaCl₂ y la combinación TH+NAC-CaCl₂ conservaron los valores de a* más bajos durante el resto del almacenamiento.

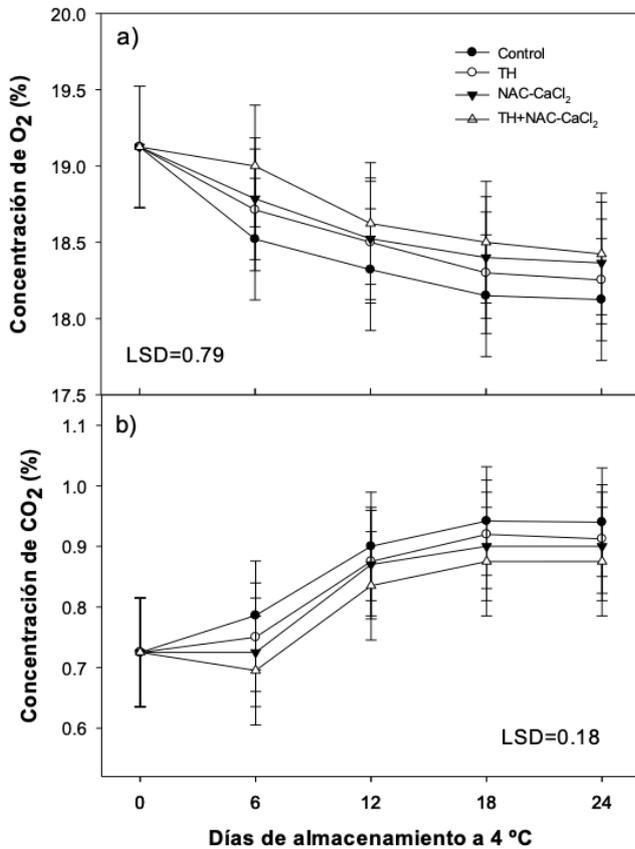


Figura 1. Cambios en la concentración de O₂ (a) y CO₂ (b) en el interior del envase conteniendo rebanadas de manzana Granny Smith tratada hidrotérmicamente (TH), con una solución de N-acetil cisteína y cloruro de calcio (NAC-CaCl₂) y la combinación TH+NAC-CaCl₂ durante el almacenamiento a 4 °C. Barras verticales indican LSD.

Fenoles totales

Conforme avanzaron los días de almacenamiento, el contenido de fenoles en los frutos control se redujo significativamente ($p \leq 0.05$), partiendo de un valor inicial de 273.4 hasta llegar a 149.7 mg ácido gálico/100 gff (Figura 3). Un comportamiento diferente se registró en las rebanadas de manzana tratadas con NAC-CaCl₂ y la combinación TH+NAC-CaCl₂ cuyos niveles de compuestos fenólicos se mantuvieron casi constantes sin detectarse diferencias estadísticas significativas a lo largo del almacenamiento ($p > 0.05$). Por otro lado, las rebanadas tratadas con TH mantuvieron constante su contenido de fenoles hasta el día 12, seguido de una disminución hasta el final del almacenamiento, mostrando diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) con el tratamiento TH+NAC-CaCl₂.

Análisis enzimático

PPO

A lo largo de los 24 días de almacenamiento, no se identificaron diferencias significativas ($p > 0.05$) en la actividad enzimática de PPO

entre las rebanadas de manzana tratadas con TH+NAC-CaCl₂, NAC-CaCl₂ y TH, registrando valores iniciales de 513.85 UA/mg proteína y finalizando con valores entre 501.85 y 573.21 UA/mg proteína (Figura 4a). Caso contrario, en los frutos control se observó un aumento significativo ($p \leq 0.05$) en la actividad de esta enzima, llegando a su punto más alto al día 18 con 819.39 UA/mg proteína.

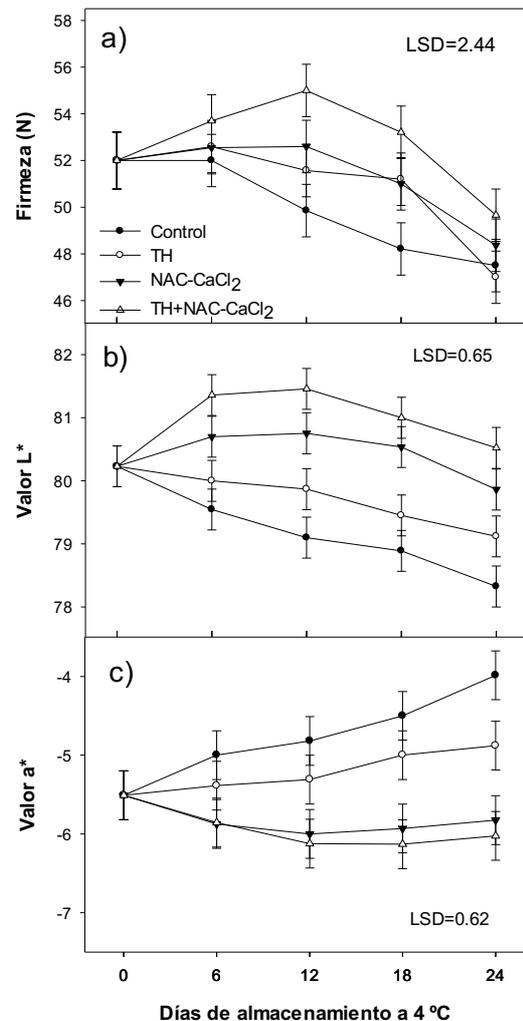


Figura 2. Cambios de firmeza (a), valor de L* (b) y valor de a* (c) en rebanadas de manzana Granny Smith tratada hidrotérmicamente (45 °C) y con aditivos químicos durante el almacenamiento a 4 °C. Barras verticales corresponden a LSD.

POD

Los frutos mostraron un promedio inicial de 61.32 UA/mg proteína, el cual fue aumentando significativamente ($p \leq 0.05$) para el tratamiento control, llegando a su nivel más alto al día 18 con 92.65 UA/mg proteína (Figura 4b). El resto de los tratamientos obtuvieron valores

finales significativamente más bajos ($p \leq 0.05$) en comparación con el control, presentando valores entre los 62.25 y los 64.89 UA/mg proteína, distinguiéndose el tratamiento TH+NAC-CaCl₂ al presentar el valor más bajo de actividad al día 12 con 59.8 UA/mg proteína.

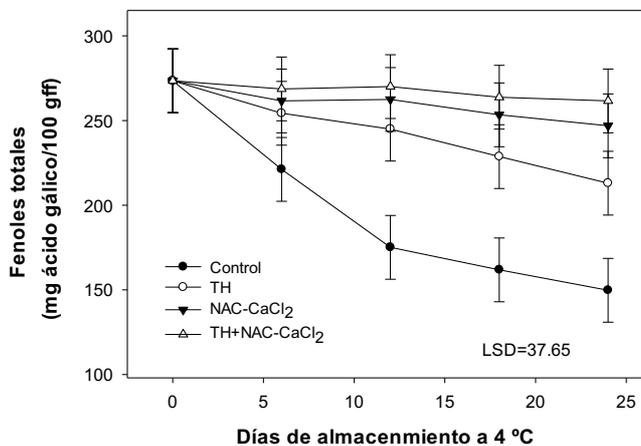


Figura 3. Contenido de compuestos fenólicos totales en rebanadas de manzana Granny Smith tratada hidrotérmicamente (TH), con una solución de N-acetilcisteína y cloruro de calcio (NAC-CaCl₂) y la combinación TH+NAC-CaCl₂ durante el almacenamiento a 4 °C. Barras verticales corresponden a LSD.

DISCUSIÓN

El comportamiento del O₂ y CO₂ a lo largo del almacenamiento pudo ser influenciado por la baja temperatura de almacenamiento y el uso de atmósferas modificadas. La combinación de ambas técnicas ayuda a prolongar la vida útil de frutas y hortalizas mínimamente procesadas, además de mantener su calidad al reducir la tasa de respiración. Los resultados obtenidos en los niveles de O₂ coinciden con los reportados por Ayón-Reyna *et al.* (2019), quienes estudiaron rebanadas de piña tratadas con N-acetilcisteína, las cuales presentaron una disminución de O₂ durante los primeros 10 días de almacenamiento a 5 °C. Concentraciones bajas de O₂ y/o elevadas de CO₂, dentro de los límites de tolerancia, logran reducir la actividad metabólica del fruto y la biosíntesis de etileno, así como también frena los procesos de maduración (Pinto de la Vega, y Cañarejo, 2016). Siddiq *et al.* (2020) observaron que el uso de atmósferas modificadas logró extender con éxito la vida útil de las peras d'Anjou frescas cortadas a 21 días, sin presentar cambios de color.

El incremento de la firmeza de los frutos tratados con TH+NAC-CaCl₂ pueden derivar del efecto sinérgico producido por la combinación del calcio con el tratamiento térmico. Por separado, el TH previene la degradación de la pared celular compuesta por celulosa y pectina al lograr inhibir enzimas como PG y PME, las cuales atacan la pared del

fruto reduciendo su firmeza (Naser *et al.*, 2018). Por otro lado, la incorporación de calcio en una concentración adecuada puede formar puentes de hidrógeno con la pectina, ayudando a mantener la integridad de la pared celular (Xu *et al.*, 2020). Resultados similares fueron obtenidos por Naser *et al.* (2018) quienes probaron una combinación de lactato de calcio y tratamiento hidrotérmico, logrando una mayor retención de firmeza en frutos de caqui. De igual manera, Xu *et al.* (2020) obtuvieron valores de firmeza más altos en frutos de chile tratados con la combinación TH-CaCl₂ que en aquellos que solo fueron tratados con TH o CaCl₂ por separado.

El color de los frutos se vio afectado por los distintos tratamientos. Para L*, aquellas rebanadas cuyo tratamiento incluían NAC-CaCl₂ en su formulación presentaron mayores valores de luminosidad que el control y el TH, lo cual puede deberse al efecto del antioxidante del NAC sobre el fruto para evitar el oscurecimiento enzimático. Los antioxidantes pueden reaccionar con el oxígeno para evitar el inicio del oscurecimiento en el fruto o con productos intermedios para romper la reacción en cadena, mientras inhibe la síntesis de melanina al reducir las o-quinonas a su compuesto fenólico original (Moon *et al.*, 2020). En el caso del NAC, este puede actuar como agente reductor e inhibidor de PPO por medio de la formación de complejos. Fan, Sokorai y Phillips (2018) trataron rebanadas de manzana Granny Smith con una formulación de ácido cítrico, ácido ascórbico y NAC, manteniendo valores de L* mayores a 70. A su vez, el TH ayuda a retrasar el proceso de maduración de los frutos, además de aumentar su vida útil y preservar su calidad (López-López *et al.*, 2013). Por otro lado, los frutos tratados con TH+NAC-CaCl₂ y NAC-CaCl₂ mantuvieron bajos los valores del parámetro a*, lo cual indica que ambos tratamientos lograron evitar la formación de pigmentos no deseados, previniendo el comienzo del oscurecimiento al reaccionar con el O₂ o con los productos intermediarios, deteniendo la reacción en cadena y previniendo la formación de melanina. Pleșoianu y Nour (2022) usaron un recubrimiento de pectina combinado con una inmersión en solución de N-acetilcisteína al 1% en pera, logrando mantener los niveles de a* durante su almacenamiento. Así mismo, Fan, Sokorai y Phillips (2018) aplicaron una combinación de ácido cítrico, ácido ascórbico y NAC en manzanas rebanadas, cuyo modelo sugirió que el NAC fue el compuesto más importante para mantener los valores de a* bajos, logrando que el oscurecimiento disminuyera al aumentar su concentración.

La disminución en el contenido de fenólicos totales puede estar relacionada a la actividad oxidante de la enzima PPO, la cual usa fenoles como sustrato para producir compuestos como o-quinonas, causantes del oscurecimiento enzimático en frutos (Prasad *et al.*,

2016). Las rebanadas tratadas con TH+NAC-CaCl₂ y NAC-CaCl₂ tuvieron una mejor preservación de los compuestos fenólicos, probablemente por efecto del NAC. Brannan y Wang (2017) probaron un tratamiento con NAC en pulpa de pawpaw, la cual no mostró disminución en los fenólicos totales durante el almacenamiento, relacionando que el NAC posee actividad inhibitoria sobre el PPO al poder reaccionar con las quinonas en la etapa inicial de la reacción enzimática de oscurecimiento para reducir las a o-difenoles, produciendo productos incoloros. A su vez, el calcio ayuda a mantener la integridad de la célula, lo cual beneficia la conservación de fenólicos al evitar una lisis celular en donde la PPO se ponga en contacto con los compuestos fenólicos y el oxígeno (Nogales-Delgado, 2021). Las rebanadas con TH lograron mantener buenas concentraciones de fenólicos, lo cual puede estar ligado a la desnaturalización de la enzima a temperaturas altas, haciendo cambios en su estructura terciaria (Shrestha et al., 2020).

Por su parte, el aumento en la actividad de PPO pudo deberse a la concentración de O₂ presente en el empaque, la cual fue suficiente para activar a la enzima y que comenzara a formar quinonas. Generalmente, la PPO se localiza en los plastidios y las sustancias fenólicas en las vacuolas de la célula. Cuando el tejido se daña, la enzima entra en contacto con los sustratos fenólicos y se produce oscurecimiento (Cerit et al., 2020). Aquellas rebanadas de manzana tratadas con TH+NAC-CaCl₂ y NAC-CaCl₂ alcanzaron los niveles más bajos de actividad enzimática, lo cual puede estar ligado a la actividad inhibitoria del NAC sobre PPO al reducir las o-quinonas a sus precursores de o-difenol. Cerit et al. (2020) trataron varas de papa con NAC, logrando inhibir la actividad de PPO. Por otro lado, los iones de calcio pueden disminuir la actividad de la enzima PPO durante el almacenamiento, probablemente por su contribución a la reducción del daño celular. Kou et al. (2015) trataron peras mediante inmersión en CaCl₂ al 2%, y concluyeron que la inhibición de PPO fue la razón por la que los tratamientos tuvieron un menor riesgo de trastorno del oscurecimiento. El TH logró disminuir la actividad enzimática al inactivar la PPO. Rodríguez-Arzuaga y Piagentini (2019) redujeron la actividad de esta enzima en manzana cultivar "Eva" mediante un TH (40 °C – 50 °C) antes de cortarlas en gajos.

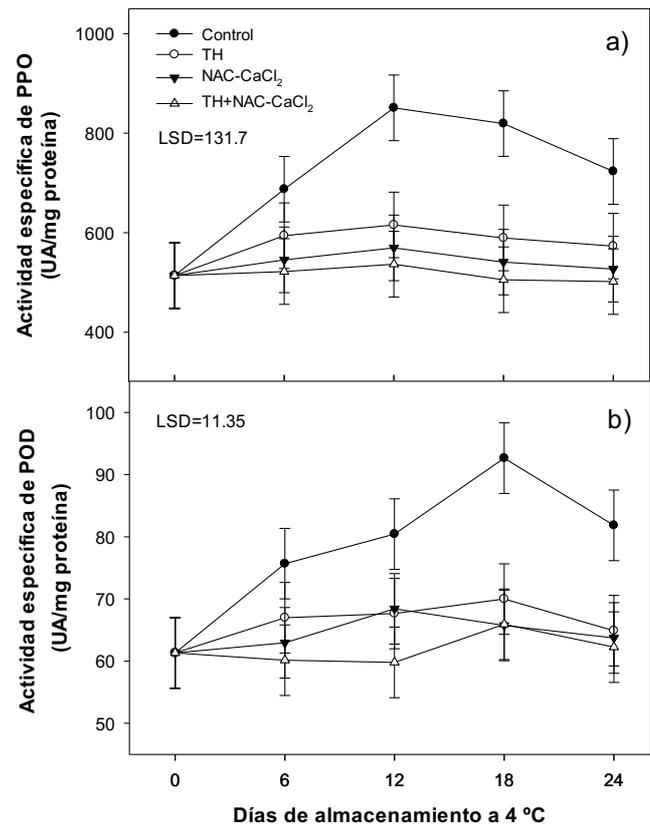


Figura 4. Cambios en la actividad específica de PPO (a) y POD (b) de rebanadas de manzana Granny Smith tratada hidrotérmicamente (TH) previo al procesamiento mínimo seguido de la inmersión en aditivos químicos y almacenada a 4 °C. Las barras verticales corresponden a LSD.

Los frutos control presentaron los valores más altos de actividad específica de POD, lo cual concuerda con las altas pérdidas de fenólicos y los índices más altos en oscurecimiento. Comparando con la actividad enzimática de la PPO, se presentan menores niveles de POD en las rebanadas de manzana. A pesar de esto, puede ser responsable de mejorar la degradación de los fenólicos cuando coexiste con las PPO (Shrestha et al., 2020). Se ha reportado que los TH acompañados con antioxidantes han ayudado a la disminución de la actividad enzimática, por ejemplo, López-López et al. (2013) reportaron resultados similares a los obtenidos en este estudio, ya que observaron que la combinación de un tratamiento hidrotérmico seguido de la inmersión en N-acetilcisteína y cloruro de calcio inhibió de manera efectiva la actividad de las enzimas PPO y POD de rebanadas de manzana cv. Red Delicious. Por su parte, Shrestha et al. (2020) observaron que un tratamiento de escaldado en agua caliente a 60 °C combinado con 1% de ácido ascórbico logró reducir la actividad de la POD en rodajas de manzana Elstar.

CONCLUSIÓN

El procesamiento mínimo acelera la actividad metabólica y los procesos de oxidación de manzana mínimamente procesada. En este sentido, la combinación de tratamiento hidrotérmico más aditivos químicos aplicados a rebanadas de manzana disminuyó la velocidad de deterioro y mantuvo la calidad, retrasando la presencia de oscurecimiento. En general, la aplicación de TH+NAC-CaCl₂ resultó ser efectiva para conservar la calidad de las rebanadas de manzana, siendo una buena alternativa para prolongar su vida de anaquel.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología (COECyT) por el apoyo económico otorgado para la realización del trabajo experimental.

DECLARACIÓN DE CONFLICTOS DE INTERÉS

Los autores declaran que no existe conflicto de interés.

REFERENCIAS

- Ayón-Reyna, L. E., Ayón-Reyna, L. G., López-López, M. E., López-Angulo, G., Pineda-Hidalgo, K. V., Zazueta-Niebla, J. A. and Vega-García, M. O. (2019). Changes in ascorbic acid and total phenolics contents associated with browning inhibition of pineapple slices. *Food Science and Technology*. 39(3), 531-537. <https://doi.org/10.1590/fst.21117>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Brannan, R. G. and Wang, G. (2017). Effect of Frozen Storage on Polyphenol Oxidase, Antioxidant Content, and Color of Pawpaw (Asimina triloba [L.] Dunal) Fruit Pulp. *Journal of Food Research*, 6(3), 93-101. <https://doi.org/10.5539/jfr.v6n3p93>
- Cerit, İ., Pfaff, A., Ercal, N. and Demirkol, O. (2020). Postharvest application of thiol compounds affects surface browning and antioxidant activity of fresh-cut potatoes. *Journal of Food Biochemistry*, 44(10), e13378 <https://doi.org/10.1111/jfbc.13378>
- Fan, X., Sokorai, K. and Phillips, J. (2018). Development of antibrowning and antimicrobial formulations to minimize Listeria monocytogenes contamination and inhibit browning of fresh-cut "Granny Smith" apples. *Postharvest Biology and Technology*, 143, 43-49. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.04.009>
- Giannakourou, M. C. and Tsironi, T. N. (2021). Application of processing and packaging hurdles for fresh-cut fruits and vegetables preservation. *Foods*, 10(4), 830. <https://doi.org/10.3390/foods10040830>
- Kou, X., Wu, M., Li, L., Wang, S., Xue, Z., Liu, B. and Fei, Y. (2015). Effects of CaCl₂ dipping and pullulan coating on the development of brown spot on "Huangguan" pears during cold storage. *Postharvest Biology and Technology*. 99, 63-72. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.08.001>
- López-López, M., Vega-Espinoza, A., Ayón-Reyna, L., López-Valenzuela, J. and Vega-García, M. (2013). Combined effect of hot water dipping treatment, N-acetylcysteine and calcium on quality retention and enzymatic activity of fresh-cut apple. *Journal of Food Agriculture and Environment*. 11, 243-248. https://www.academia.edu/37624334/Combined_effect_of_hot_water_dipping_treatment_N_acetylcysteine_and_calcium_on_quality_retention_and_enzymatic_activity_of_fresh_cut_apple
- Moon, K. M., Kwon, E.-B., Lee, B. and Kim, C. Y. (2020). Recent trends in controlling the enzymatic browning of fruit and vegetable products. *Molecules*. 25(12), 2754. <https://doi.org/10.3390/molecules25122754>
- Naser, F., Rabiei, V., Razavi, F. and Khademi, O. (2018). Effect of calcium lactate in combination with hot water treatment on the nutritional quality of persimmon fruit during cold storage. *Scientia Horticulturae*. 233, 114-123. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.01.036>
- Nogales-Delgado, S. (2021). Polyphenoloxidase (PPO): Effect, Current Determination and Inhibition Treatments in Fresh-Cut Produce. *Applied Sciences*. 11(17), 7813. <https://doi.org/10.3390/app11177813>
- Pinto, N., de la Vega, J. and Cañarejo, M. (2016). Utilización del método de conservación bajo atmósferas controladas en frutas y hortalizas. *Agroindustrial Science*. 6(2), 231-238. <https://doi.org/10.17268/agroind.science.2016.02.08>
- Pleşoianu, A. M. and Nour, V. (2022). Pectin-based edible coating combined with chemical dips containing antimicrobials and antibrowning agents to maintain quality of fresh-cut pears. *Horticulturae*. 8(5), 449. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8050449>
- Prasad, K., Sharma, R. R. and Srivastav, M. (2016). Postharvest treatment of antioxidant reduces lenticel browning and

- improves cosmetic appeal of mango (*Mangifera indica* L.) fruits without impairing quality. *Journal of Food Science and Technology*. 53(7), 2995–3001. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2267-z>
- Rodríguez-Arzuaga, M., Ríos, G. and Piagentini, A. M. (2019). Mild heat treatments before minimal processing reduce browning susceptibility and increase total phenolic content of low-chill apple cultivars. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2019;00:e14209. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14209>
- Shrestha, L., Kulig, B., Moscetti, R., Massantini, R., Pawelzik, E., Hensel, O. and Sturm, B. (2020). Optimization of Physical and Chemical Treatments to Control Browning Development and Enzymatic Activity on Fresh-cut Apple Slices. *Foods*. 9(1), 76. <https://doi.org/10.3390/foods9010076>
- Siddiq, R., Auras, R., Siddiq, M., Dolan, K. D. and Harte, B. (2020). Effect of modified atmosphere packaging (MAP) and NatureSeal® treatment on the physico-chemical, microbiological, and sensory quality of fresh-cut d'Anjou pears. *Food Packaging and Shelf Life*. 23. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100454>
- Xu, H., Wang, Y., Ding, S., Zhou, H., Jiang, L. and Wang, R. (2020). Effect of hydrothermal-calcium chloride treatment on pectin characteristics and related quality in green peppers during storage. *Journal of Food Science and Technology*. 58(10), 3712–3724. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04829-0>
- Yousuf, B., Qadri, O. S. and Srivastava, A. K. (2018). Recent developments in shelf-life extension of fresh-cut fruits and vegetables by application of different edible coatings: A review. *Food Science and Technology*. 89, 198–209. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.05>

Análisis de marcadores bioquímicos en gestantes con y sin preeclampsia que acuden al Centro de Investigación y Docencia en Ciencias de la Salud y al Hospital Civil de Culiacán

Analysis of biochemical markers in pregnant women with and without preeclampsia who attend the Center for Research and Teaching in Health Sciences and to the Civil Hospital of Culiacan

Mora-Palazuelos C.E.¹, Aguilar-Medina M.², Martínez-Quintero K.G.², Ramos-Payan R.², Lara-Ávila L.¹, Herrera-Salazar A.¹, Murillo-Llanes J.³, Romero-Quintana J.G.^{2,*}

¹Centro de Investigación y Docencia en Ciencias de la Salud, UAS, 80030, Culiacán, Sinaloa, Méx., ²Facultad de Ciencias Químico Biológicas, UAS, 80013, Culiacán, Sinaloa, Méx., ³Hospital de la Mujer Sinaloa, 80020. Culiacán Sinaloa, Méx.

RESUMEN

La preeclampsia (PE) es un síndrome que se caracteriza por incremento de tensión arterial ($\geq 140/90$ mmHg) acompañado con excreción de proteína en orina de 24 horas (≥ 300 mg) y afecciones multiorgánicas que ponen en riesgo la viabilidad del binomio. Este síndrome afecta entre el 2-8% de todas las gestantes a nivel mundial. El objetivo de este trabajo fue analizar marcadores bioquímicos en gestantes con y sin preeclampsia que acuden a un hospital regional durante el periodo 2018 a 2019. Es un estudio transversal de tipo casos y controles. Se lograron reclutar 4 casos vs 50 controles, dentro de los casos, surgió una subclasificación en PE 75% (3) y preeclampsia con datos de severidad (PEds) 25% (1). Los casos presentaron una tensión arterial (TA) de $153/96.75 \pm 13.11/5.25$ mmHg vs $124/78.42 \pm 18.41/13.43$ mmHg los controles mostrando asociación estadística ($p=0.001$ y $p=0.003$ para tensión sistólica y diastólica respectivamente). La creatinina fue de 1.93 ± 8.60 mg/dL vs 0.59 ± 0.06 mg/dL para los controles y los casos respectivamente, no presentando asociación estadística ($p=0.759$). La transaminasa glutámico oxalacética fue de 28.73 ± 23.70 mg/dL y 24.00 ± 10.00 mg/dL para los controles y casos respectivamente, sin significancia estadística ($p=0.739$), la transaminasa glutámico pirúvica fue 28.21 ± 27.20 mg/dL vs 27.33 ± 17.21 mg/dL para los controles y los casos respectivamente, sin asociación significativa ($p=0.957$). Con relación al nivel de proteína en orina de 24 horas (PtO 24 h), los casos presentaron $2,858.8 \pm 4,317.1$ vs 267.5 ± 239.6 mg los controles, no encontrando asociación significativa al desarrollo de PE ($p=0.316$). Ninguna paciente presentó complicaciones que necesitaran hospitalización debido al manejo materno fetal.

Palabras clave: Morbimortalidad, Gestación, Marcadores Bioquímicos, Preeclampsia

ABSTRACT

The preeclampsia (PE) is a syndrome characterized by increased blood pressure ($\geq 140/90$ mmHg) accompanied by proteinuria in a 24-hour urine collection (≥ 300 mg) and multiorgan involvement that jeopardizes the viability of both the mother and the fetus. This syndrome affects between 2-8% of all pregnant women worldwide. The objective of this study was to analyze biochemical markers in pregnant women with and without preeclampsia attending a regional hospital during the period 2018 to 2019. It is a cross-sectional study of case-control type. We were able to recruit 4 cases vs. 50 controls. Among the cases, a subclassification emerged into PE 75% (3) and preeclampsia with severity data (PEds) 25% (1). The cases presented a blood pressure (BP) of $153/96.75 \pm 13.11/5.25$ mmHg vs $124/78.42 \pm 18.41/13.43$ mmHg in controls, showing statistical association ($p=0.001$ and $p=0.003$ for systolic and diastolic blood pressure, respectively). Creatinine was 1.93 ± 8.60 mg/dL vs 0.59 ± 0.06 mg/dL for controls and cases, respectively, with no statistical association ($p=0.759$). Glutamic oxaloacetic transaminase was 28.73 ± 23.70 mg/dL y 24.00 ± 10.00 mg/dL for controls and cases, respectively, without statistical significance ($p=0.739$). Glutamic pyruvic transaminase was 28.21 ± 27.20 mg/dL vs. 27.33 ± 17.21 mg/dL for controls and cases, respectively, with no significant association ($p=0.957$). Regarding the 24-hour urine protein level (PtO 24 h), cases presented $2,858.8 \pm 4,317.1$ vs 267.5 ± 239.6 mg in controls, finding no significant association with the development of PE ($p=0.316$). No patient experienced complications requiring hospitalization due to maternal-fetal management.

Keywords: Morbimortality, Gestation, Biochemical Markers, Preeclampsia

*Autor de correspondencia: José Geovanni Romero-Quintana

E-mail: geovanniromero@uas.edu.mx

ORCID ID: 0000-0003-2646-106X

Registro ORCID Autores: CEM: 0000-0003-1748-0760, MAM: 0000-0002-5240-0802, RRM: 0000-0001-7500-7571

Revista online: <https://revistas.uas.edu.mx/index.php/QBU/index>

INTRODUCCIÓN

En 2020, fallecieron alrededor de 800 mujeres embarazadas a nivel mundial por motivos relacionados con el embarazo y el parto, lo que equivale a una muerte materna casi cada 2 minutos (OMS, 2023). Aproximadamente el 75% de esta mortalidad materna se vincula con la preeclampsia (PE).

La PE afecta entre el 2 y 8% de todos los embarazos y se caracteriza por una hipertensión de novo ($\geq 140/90$ mmHg) en dos diferentes tomas y ocurre durante la segunda mitad del embarazo, además se acompaña por excreción de PtO 24 h (≥ 300 mg), falla multiorgánica (insuficiencia renal o hepática), complicaciones neurológicas, trombocitopenia y/o hemólisis (ACOG, 2020).

En el recién nacido (RN) la PE se ha asociado a restricción de crecimiento intrauterino (RCIU), síndrome de dificultad respiratoria neonatal, encefalopatía hipóxica, displasia broncopulmonar entre otras (Phipps, Thadhani, Benzing, & Karumanchi, 2019).

La fisiopatología de la PE es multifactorial. En primera instancia, se observa un desarrollo anormal de la placenta, que es el factor común subyacente en la PE. Posteriormente, se desencadena una disfunción endotelial, primero in situ y luego a nivel sistémico, factores asociados al sistema inmunológico, donde sobresale desregulación en los perfiles de citocinas Th1/Th2 y linfocitos T reguladores (Treg), y finalmente factores genéticos (Lin *et al.*, 2015).

A pesar de los cambios fisiopatológicos, como la placentación inadecuada desde los primeros meses del embarazo, la hipertensión, la proteinuria y otras alteraciones multiorgánicas (si las hay), se evidencian en el umbral clínico. En su mayoría, estos síntomas se presentan durante la segunda mitad del embarazo. Varios autores distinguen ambas situaciones en el embarazo según los síntomas y los resultados de estudios clínicos y parámetros bioquímicos. Específicamente, caracterizan la PE por la presencia de proteinuria, que se manifiesta como un síntoma tardío que agrava la situación en la gestante.

Según la Sociedad Europea de Cardiología entre los factores de alto riesgo para el desarrollo de PE están la enfermedad hipertensiva en el embarazo previo, la enfermedad renal crónica (ERC), enfermedades autoinmunes, como por ejemplo, lupus eritematoso sistémico o síndrome antifosfolipídico, diabetes mellitus tipo 1 (DM1) o tipo 2 (DM2), hipertensión arterial (HTA) crónica (ESC/ESH, 2019). Los factores de riesgo moderado son primigestas, edad materna ≥ 40 años, periodo intergenésico ≥ 10 años, índice de masa corporal (IMC) ≥ 35 kg/m² en la primera consulta, antecedente familiar de PE, ser nulípara o multigesta, embarazo adolescente, estados que causan

hiperplacentación y placentas grandes, por ejemplo, embarazo gemelar (SSA, 2017).

Los resultados de laboratorio clínico afectan hasta el 70% el diagnóstico médico, generando un verdadero impacto en el tratamiento y pronóstico de los pacientes (Angüiano-Sánchez *et al.*, 2011). Derivado de esto, se ha logrado identificar alteraciones en los valores y rangos de diferentes muestras biológicas de las gestantes que han sido identificadas como potenciales biomarcadores clínicos para el diagnóstico de la PE.

En ese sentido, las Guías de Prácticas Clínicas (GPC) para la prevención, diagnóstico y tratamiento de la PE sobresalen una excreción de proteína en orina ≥ 300 mg/24 h, creatinina sérica (>30 mg/mmol) en gestantes >20 semanas de gestación (SDG) hasta las dos semanas posparto, y en el caso de PE con datos de severidad trombocitopenia ($<150,000$ mm³), elevación de lipoproteína de baja densidad (LDL), enzimas hepáticas elevadas (aspartato amino transferasa, AST, o alanino amino transferasa, ALT) (IMSS, 2017).

El ácido úrico es otro de los marcadores más estudiados, porque está documentado su sobreactividad en la placenta de pacientes con PE. Es el producto final de la degradación de las purinas, el cual es un compuesto antioxidante que, en ausencia de otros antioxidantes, como el ácido ascórbico, puede comportarse como agente oxidante y proinflamatorio. El nivel sérico en mujeres no embarazadas es de 2.4 a 5.7 mg/dL, en embarazadas sanas ≤ 4 mg/dL y en las gestantes con PE, la media es de 6.7 mg/dL (Vázquez Rodríguez & Isla Arias, 2018).

Por otro lado, la proteinuria aumenta en el embarazo porque existe un incremento de la tasa de filtración glomerular, unido a una disminución de la tasa de reabsorción tubular, lo que facilita una mayor eliminación de proteínas. En el laboratorio clínico, las tiras reactivas para el examen general de orina (EGO) son utilizadas también como medio diagnóstico en el primer nivel de atención principalmente; sin embargo, para obtener una validez se deben reunir otros requisitos como comprobar la densidad en la orina y el pH, ya que variaciones entre estas variables puede producir discrepancias en los resultados (Nápoles Méndez, 2016).

Reportes previos indican que los niveles séricos de lípidos fueron mayores en las embarazadas con PE en relación con las embarazadas normotensas. Se hipotetiza que estos cambios tienen un papel en el daño celular endotelial, que es un síntoma característico en la PE (Duarte Mote *et al.*, 2014).

Como se observa, la PE afecta diversos órganos y sistemas creando alteraciones en los niveles de ciertos marcadores bioquímicos presentes en diversas muestras biológicas tales como sangre total, suero y orina; los cuales pueden ser utilizados como marcadores

predictores para obtener información respecto a la condición de la gestante en tiempo real. Por lo anterior, el objetivo central del presente proyecto fue analizar marcadores bioquímicos en gestantes con y sin preeclampsia que acudieron a la clínica de medicina materno fetal del Centro de Investigación y Docencia en Ciencias de la Salud (CIDOCS) y el Hospital Civil de Culiacán (HCC) durante el periodo 2018-2019.

MATERIALES Y MÉTODOS

Reclutamiento de participantes

Se desarrolló un estudio de casos y controles en el CIDOCS de la Universidad Autónoma de Sinaloa (UAS) durante los meses de febrero de 2018 a enero de 2019. Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de todas las participantes incluidas en el estudio, así como la anamnesis e historia clínica fueron consultados de los expedientes electrónicos del hospital.

Los criterios de inclusión abarcaban a las gestantes que asistieron a la clínica de medicina materno fetal del CIDOCS y al servicio de tococirugía del HCC para llevar a cabo el control prenatal y la resolución del embarazo, respectivamente. Se aceptaron aquellas que proporcionaron su firma en la carta de consentimiento informado.

Se excluyó a toda paciente con enfermedad crónico-degenerativa; diabetes, cáncer, enfermedades cardiovasculares, enfermedades respiratorias, nefropatías, hepatopatías, condiciones autoinmunitarias, así como aquellas pacientes que consumieron alimentos por lo menos 4 horas antes de la toma de la muestra sanguínea. Finalmente, fueron eliminadas las pacientes cuyas muestras fueron insuficientes, mal tomadas o con error en el procedimiento del laboratorio.

El grupo de PE se definió como un embarazo que regularmente se mantiene normoestable durante las primeras 20 SDG, con episodios de TA $\geq 140/90$ mmHg con una duración de 4 horas y la excreción ≥ 300 mg de proteína en orina durante 24 horas. Sin embargo, existen otras sintomatologías como la trombocitopenia (plaquetas $\leq 100,000 \times 10^9/L$), alteraciones hepáticas (dos veces el nivel superior de las enzimas), dolor epigástrico intenso, insuficiencia renal (niveles de creatinina sérica de 1.1 mg/dL), edema pulmonar, dolor de cabeza de nueva aparición con alteraciones visuales.

Por otro lado, en el grupo de PE con datos de severidad (PEds) se incluyeron embarazos mayores de 20 SDG, presión arterial $\geq 160/110$ mmHg, proteinuria significativa y falla multiorgánica (ACOG, 2020). Toda la información clínica que se obtuvo de las pacientes fue estrictamente almacenada y en total confidencialidad acorde a como lo indica la Ley Federal de Protección de Datos Personales en Posesión de los Particulares.

Cuantificación de parámetros bioquímicos

Para la determinación de los niveles de glucosa, urea, creatinina, ácido úrico, colesterol total, colesterol de baja densidad (LDL), proteína c reactiva (PCR), transaminasa glutámico oxalacética (TGO) y la transaminasa glutámico pirúvica (TGP) fue empleado el equipo Vitros 4600 de la casa comercial Ortho Clinical Diagnostics, mediante la metodología de integración real de química e inmunoensayo.

Respecto a la determinación de la biometría hemática completa se llevó a cabo mediante el equipo Sysmex i100 de la casa comercial Siemens, mediante la metodología de citometría de flujo.

Análisis estadístico

Se empleó estadística descriptiva con un nivel de confianza del 95%. Posteriormente se calculó la Razón de Riesgo y sus intervalos de confianza, todo fue analizado mediante el software IBM SPSS v23.

RESULTADOS

Clasificación e historia clínica

Durante el periodo en estudio se lograron reclutar 4 casos vs 50 controles, todas las pacientes autorizaron participar en el estudio firmando el consentimiento informado. Por lo anterior, se ilustra en la Tabla 1, donde sobresale la edad promedio para los casos, la cual fue de 28.00 ± 8.20 años vs 24.36 ± 6.29 años para los controles, no mostrando asociación estadísticamente significativa ($p=0.280$). Dentro del estado civil de las participantes, el 75% (3 pacientes) de los casos y 68% (34) de los controles viven en unión libre, siendo este el estado civil que predominó en la población para ambos grupos de estudios, no observando asociación estadísticamente significativa ($p=0.789$).

Respecto a la escolaridad, se observó que el nivel básico de estudios fue el más frecuente, donde los casos presentaron el 75% vs 60% los controles, no mostrando asociación significativa ($p=0.809$). Con relación al lugar de nacimiento, el 50% (2) de los casos nacieron en otros municipios de Sinaloa, mientras que el 46% (23) de los controles nacieron en Culiacán. No se observó significancia estadística ($p=0.406$). La ocupación del 100% de los casos vs 94% (47) de los controles fue ama de casa, sin significancia estadística ($p=0.881$).

Condiciones médicas preexistentes

El 75% (3) de los casos vs 36% (18) de los controles no usan anticonceptivos, respecto a las gestantes que, si utilizan anticonceptivos, el 25% (1) de los casos y el 48% (24) de los controles también usan el hormonal, siendo el método anticonceptivo más empleado, de acuerdo con los datos observados. Sobresale que los

hijos previos a esta gesta no son del mismo padre, siendo el 25% (1) de los casos vs 24% (12) de los controles.

Tabla 1. Historia clínica de los sujetos de estudio variable

Variable	Casos (n=4)	Controles (n=50)	Valor de p
Edad ^a (años) (Media±DE)	28.00±8.20	24.36±6.29	0.280
Estado civil ^b (Frecuencias)	Unión libre: 75% Casadas: 25%	Unión libre: 68% Solteras: 16% Casadas: 14%	0.789
Escolaridad ^b (Frecuencias)	Básico: 75% Medio sup.: 25%	Básico: 60% Medio sup.: 36% Superior: 4%	0.809
Lugar de nacimiento ^b (Frecuencias)	Otros Sinaloa: 50% Culiacán: 25% Jalisco: 25%	Culiacán: 46% Otros Sinaloa: 28% Otros estados: 10%	0.406
Ocupación ^b (Frecuencias)	Ama de casa: 100%	Ama de casa: 94% Oficios varios: 4% Empresarias: 2%	0.881
Peso al último trimestre ^a (Media±DE)	84.97±14.03	75.43±14.21	0.202
TA sistólica ^a (mmHg)	153.00±13.11	124.00±18.41	0.001
TA diastólica ^a (mmHg)	96.75±5.25	78.42±13.43	0.003
SDG ^a (Media±DE)	36.75±0.50	37.24±4.06	0.415
Peso RN ^a (kg) (Media±DE)	2.85±0.45	3.22±0.58	0.223
Talla RN ^a (cm) (Media±DE)	50.00±0.00	50.27±2.74	0.494

DE= desviación estándar, Medio sup.= nivel medio superior, Otros Sinaloa= otros municipios Sinaloa, NA= no aplica, TA= tensión arterial, SDG= semanas de gestación, RN= recién nacido, a= t de student, b= chi cuadrada

Frecuencia de preeclampsia en gestantes del CIDOCS

Dentro del grupo de casos surgió una subclasificación, PE representado por 75% (3) y PEds 25% (1). Esta surgió con base en las características clínicas y sintomatología que desarrollaron las gestantes.

Dentro de los valores de TA, se observó que los casos presentaron 153/96.75±13.11/5.25 mmHg vs 124/78.42±18.41/13.43 mmHg para los controles, mostrando asociación estadística al desarrollo de PE (p=0.001 y p=0.003 para TA sistólica y TA diastólica respectivamente). Respecto a los antecedentes heredo familiares en los casos, se observó en familia directa de las gestantes que las enfermedades cardiovasculares y la diabetes ocuparon el primer lugar con 50% cada una. Por otro lado, en los controles se observó en familia directa las

enfermedades cardiovasculares en primer lugar con 37.7% (23), seguida de diabetes 27.9% (17) y cáncer 8.2% (5).

Cuantificación de parámetros bioquímicos en gestantes

Los parámetros laboratoriales son buenos marcadores bioquímicos para el diagnóstico de ciertas enfermedades y patologías, y como ya se mencionó, son responsables en gran parte del éxito en el diagnóstico y tratamiento de los pacientes. Derivado de lo anterior, en la Tabla 2 se observan los principales parámetros laboratoriales que indican las GPC, por ejemplo, creatinina, LDL, TGO, TGP, sobresaliendo la glucosa, la cual se observó de 85.65±13.27 mg/dL y 95.75±39.76 mg/dL para los controles y casos respectivamente, no presentando asociación estadística significativa al desarrollo de la PE (p=0.648). Respecto a la urea, ésta se observó en 16.66±5.94 mg/dL y 18.20±7.29 mg/dL para los controles y los casos respectivamente, no presentando asociación estadísticamente significativa (p=0.627). En tanto a la creatinina, se observó en 1.93± 8.60 mg/dL y 0.59± 0.06 mg/dL para los controles y los casos respectivamente, no presentando asociación estadísticamente significativa (p=0.759).

Con relación a los valores de TGO, se observaron valores de 28.73±23.70 mg/dL y 24.00±10.00 mg/dL para los controles y casos respectivamente, no encontrando asociación estadísticamente significativa al desarrollo de preeclampsia (p=0.739). De la TGP, se presentaron valores de 28.21±27.20 mg/dL y 27.33±17.21 mg/dL para los controles y los casos respectivamente, no presentando asociación estadísticamente con el desarrollo de PE (p=0.957). Con relación al nivel de PtO 24 h, los casos presentaron 2,858.8±4,317.1 vs 267.5±239.6 mg los controles, no encontrando asociación significativa al desarrollo de PE (p=0.316).

Respecto a los principales parámetros del hemograma, Tabla 3, se puede observar la hemoglobina con 11.97±1.51 vs 11.55±1.45 g/dL para los casos y controles respectivamente, no mostrando asociación significativa (p=0.586). En tanto al hematocrito, se observó 36.12±5.12 vs 35.25±4.01% para los casos y controles respectivamente, no observando significancia estadística (p= 0.684). Respecto a los niveles de plaquetas, se cuantificó 213.50±77.08 vs 226.29±59.48 millones/mm³ para los casos y controles respectivamente, no encontrando asociación significativa al desarrollo de PE (p=0.687). Finalmente, el nivel de leucocitos fue de 9.36±2.32 vs 11.14±3.26 y miles/μL para casos y controles respectivamente, tampoco observando asociación significativa (p=0.293), aquí se aprecia que contrario a los parámetros anteriores como hemoglobina y hematocrito, en estos parámetros sobresalen los valores del grupo control, cuestionándose la importancia que representan las plaquetas

y los leucocitos en embarazadas con dificultad multiorgánica y alta presión arterial

DISCUSIÓN

Los resultados de las edades de las participantes en el estudio coinciden con una investigación realizada en Colombia, donde las gestantes con preeclampsia oscilaron entre 20 y 35 años (Claros Benítez *et al.*, 2016). En ambos casos, esta franja de edad no se considera un factor de riesgo para el desarrollo de la preeclampsia.

En relación con el estado civil, es crucial analizarlo, ya que un estudio en Colombia reveló que estar separada o en unión libre se asoció a un riesgo cuatro veces mayor de experimentar ansiedad preoperatoria. Además, se observó que la mayoría de los casos confirmados optaron por la cesárea, posiblemente buscando una mayor estabilidad tanto para la madre como para el neonato (Quintana-Guardo, Monterrosa-Castro, & Beltrán-Barríos, 2020).

En otra investigación, las personas que viven en unión libre y sobre todo las solteras, son más propensas a desarrollar ansiedad y estrés creando un estado de inestabilidad emocional. De hecho, por la simple razón de ser solteras, presentar PE y el hecho de llegar a ser hospitalizada por complicaciones relacionadas a la misma, pueden presentar episodios donde involucraría depresión posparto entre otras cuestiones psicológicas, mentales y físicas (Preciado-Duarte, Trujillo-Madriral, & Rojas-Espitia, 2018).

En cuanto al nivel educativo de la población estudiada, se alinea con una investigación que señala que el 50% de su población total solo había completado la educación secundaria como máximo nivel de instrucción (De Jesús García A *et al.*, 2018). Otro estudio en Puebla, México, indica que en términos de años de estudio, se estima que más del 80% de la muestra había concluido el nivel educativo básico (García M, García G, Arreguin L, & Landeros E, 2011). Esto resalta la falta de educación entre las madres, no solo en grupos de edad jóvenes, sino en todas las franjas etarias, donde prevalece la desinformación y/o la falta de cuidados adecuados durante el embarazo, incluso cuando se presentan complicaciones como la preeclampsia. Ambos estudios sugieren una leve asociación socioeconómica, aunque no fue el enfoque principal de la presente investigación, se considera que está vinculada al nivel educativo, la escasez, el desempleo, el poder adquisitivo y el nivel académico.

Tabla 2. Cuantificación de parámetros bioquímicos en sujetos de estudio

Grupo	Variable	Media \pm DE	Valor p
Controles	Glucosa ^a (mg/dL)	85.65 \pm 13.27	0.648
	Urea ^a (mg/dL)	16.66 \pm 5.94	0.627
	Creatinina ^a (mg/dL)	1.93 \pm 8.60	0.759
	Ácido Úrico ^a (mg/dL)	4.57 \pm 1.19	0.709
	PCR ^a (mg/dL)	3.27 \pm 6.95	0.492
	Colesterol total ^a	266.00	-
	LDL ^a	179.00	-
	HDL ^a	57.00	-
	TGO ^a (mg/dL)	28.73 \pm 23.70	0.739
	TGP ^a (mg/dL)	28.21 \pm 27.20	0.957
Casos	PtO 24 h ^a (mg)	267.5 \pm 239.6	0.316
	Glucosa ^a (mg/dL)	95.75 \pm 39.76	0.648
	Urea ^a (mg/dL)	18.20 \pm 7.29	0.627
	Creatinina ^a (mg/dL)	0.59 \pm 0.06	0.759
	Ácido Úrico ^a (mg/dL)	4.25 \pm 0.35	0.709
	PCR ^a (mg/dL)	5.97 \pm 9.00	0.492
	Colesterol total ^a	NC	-
	LDL ^a	NC	-
	HDL ^a	NC	-
	TGO ^a (mg/dL)	24.00 \pm 10.00	0.739
TGP ^a (mg/dL)	27.33 \pm 17.21	0.957	
PtO 24 h ^a (mg)	2,858.8 \pm 4,317.1	0.316	

DE= desviación estándar, PCR= proteína C reactiva, LDL= colesterol de baja densidad, HDL= colesterol de alta densidad, TGO= transaminasa glutámico oxalacética, TGP= transaminasa glutámico pirúvica, PtO 24 h= proteína en orina de 24 horas, NC= no cuantificado, a= t de student, b= chi cuadrada.

En cuanto a la planificación familiar y el uso de anticonceptivos, en la vida sexual de la mujer contemporánea, la utilidad de métodos anticonceptivos y de barrera es de suma importancia para evitar embarazos no deseados y reducir el riesgo de infecciones de transmisión sexual (ITS). En la presente investigación, se observó que el 75% de los casos y el 36% de los controles no utilizaron dichos métodos, lo que aumenta el riesgo no solo de tener un embarazo de alto riesgo debido al desarrollo de preeclampsia, sino también de contraer una ITS durante la gestación, lo que podría complicar aún más el embarazo.

Tabla 3. Resultados de hemograma en sujetos de estudio

Parámetro	Controles	Casos	Valor p
Hemoglobina ^a (g/dL)	11.557±1.45	11.97±1.51	0.586
Plaquetas ^a (millones/mm ³)	226.29±59.45	213.50±77.08	0.687
Hematocrito ^a (%)	35.25±4.01	36.12±5.12	0.684
Eritrocitos ^a (millón/dL)	4.09±0.42	4.07±0.62	0.903
Volumen plaquetario medio ^a (fL)	11.41±1.31	11.45±2.30	0.979
Volumen corpuscular medio ^a (fL)	84.78±9.07	88.90±1.70	0.373
Concentración de hemoglobina corpuscular media ^a (g/dL)	32.24±1.88	33.20±0.63	0.320
Amplitud de distribución eritrocitaria ^a (fL)	42.57±7.16	43.25±1.27	0.853
Coefficiente de variación de ancho de distribución eritrocitaria ^a (%)	14.10±1.91	13.27±0.15	0.393
Leucocitos totales ^a (miles/uL)	11.14±3.26	9.36±2.32	0.293
Porcentaje de neutrófilos ^a	73.30±8.40	76.32±4.60	0.483
Porcentaje de linfocitos ^a	17.87±6.94	15.15±6.01	0.452
Porcentaje de monocitos ^a	5.98±1.85	6.60±1.89	0.524
Porcentaje de eosinófilos ^a	1.57±3.11	0.67±0.74	0.572
Porcentaje de basófilos ^a	0.40±0.94	0.22±0.09	0.708
Neutrófilos ^a (miles/uL)	8.28±3.12	7.08±1.39	0.452
Linfocitos ^a (miles/uL)	1.88±0.65	1.47±0.88	0.251
Monocitos ^a (miles/uL)	0.65±0.24	0.60±0.21	0.690
Eosinófilos ^a (miles/uL)	0.11±0.13	0.09±0.05	0.696
Basófilos ^a (miles/uL)	0.03±0.01	0.04±0.03	0.511

^a= t de student.

Vale la pena resaltar que los hijos de embarazos previos, el 25% vs 24% para los casos y controles respectivamente, son de diferente padre. Lo anterior concuerda con reportes donde se sugiere que la hipertensión inducida por el embarazo es una respuesta inmunológica materna al antígeno fetal extraño derivado del padre, contenido en los espermatozoides y fluido seminal (Santiago Márquez, Harold Huamán, & Graciela Artica, 1999). Como la PE tiene un origen inmunológico, su incidencia puede estar relacionada con la duración de la exposición a los antígenos paternos.

Como una variable aleatoria, en donde muchas mujeres se preguntan por qué en un embarazo no presentó PE, mientras que en otro sí, teniendo diferente pareja sexual; existen reportes donde se ha confirmado que el padre, producto de un embarazo con PE o el padre de un embarazo previo con PE, tiene mayor riesgo de procrear un hijo con PE (Zuluaga, Cuartas, & Londoño, 2004).

Como era de esperarse, los valores de TA de las participantes estuvieron dentro de los rangos para el tipo de población, resultados que concuerdan con una cohorte donde se encontró que la morbilidad materna grave fue significativamente más frecuente en los casos (8.8%) en comparación con los controles (2.3%) ($p < 0.001$) (Segovia Vázquez & Álvarez, 2018).

Respecto a los principales antecedentes heredo familiares, los autores (Toro Rendon, Correa Gutiérrez, Calle Tavera, Ocampo Mesa, and Vélez Cuervo, 2019) mencionan la relación de enfermedades hepáticas cursando en embarazos con PE, esto como un factor predisponente de la madre, en la cual ya cuenta, cursa o tiene predisposición genética a desarrollar enfermedades hepáticas no relacionadas con el embarazo, como por ejemplo: enfermedades autoinmunes, metabólicas, cirrosis, pacientes postransplantadas y con enfermedades poliquísticas, entre otras.

Además, hay enfermedades hepáticas relacionadas con el embarazo como hiperémesis gravídica, colestasis intrahepática gestacional, preeclampsia/eclampsia, síndrome de HELLP, hematoma subcapilar y ruptura hepática. Aunado al tema, estas enfermedades ya sean presentes antes o durante el embarazo y cursando con PE, se correlacionan con aumento de peligro y morbimortalidad de la madre y el riesgo de un parto pretérmino ("Hepatopatía y embarazo," 2008; Mikolasevic et al., 2018).

Respecto a los parámetros laboratoriales, la química clínica en la presente investigación no se observó asociación al desarrollo de PE en colesterol y glucosa, sin embargo, estos resultados difieren con lo reportado en el Estado de México donde se observó asociación estadísticamente significativa al desarrollo de PE para triglicéridos ($p < 0.000$), colesterol ($p < 0.011$) y glucosa ($p > 0.000$) (Duarte Mote, Pérez Torres, & Romero Figueroa, 2014).

Es importante mencionar que en el hospital donde se realizó la presente investigación, por protocolo, solamente a las gestantes con RN macrosómicos se les cuantificó el perfil de lípidos, que, en este caso, solamente fue una embarazada, por lo que al resto de las participantes a pesar de solicitárselo no se les cuantificó dicho perfil por cuestiones económicas.

Otro estudio mostró que las gestantes con PEds y con diagnóstico de eclampsia presentaron valores más altos de transaminasas, deshidrogenasa láctica y ácido úrico comparadas con los controles, mostrando asociación estadística ($p < 0.05$) (Reyna Villasmil et al., 2014).

En los parámetros de importancia del hemograma, destaca la hemoglobina, cuya baja presencia se asocia comúnmente a la anemia. Sin embargo, durante el embarazo, es normal que las mujeres

normotensas experimenten niveles ligeramente reducidos tanto de hemoglobina como de hematocrito, ya que es un proceso fisiológico que tiende a disminuir hasta cierto punto. Lo crucial en este contexto es el control prenatal, preferiblemente mensual, con análisis de hemograma correspondiente para monitorear los niveles. En caso de una significativa disminución, es esencial que el obstetra intervenga rápidamente para evitar que afecte la viabilidad del binomio.

Los niveles bajos de plaquetas son de suma importancia, especialmente en los casos en los que las gestantes experimentan complicaciones como el síndrome de HELLP, eclampsia o preeclampsia con datos de severidad (Peds). En estas situaciones críticas, se puede considerar la interrupción del embarazo como medida para salvaguardar la vida tanto de la madre como del bebé (Andreeva et al., 2021).

Asimismo, es relevante el monitoreo de los leucocitos, especialmente si están muy elevados, ya que podría indicar la presencia de una infección, sobre todo en casos de infecciones en vías urinarias. Este tipo de infecciones es una de las principales causas de morbimortalidad materna, lo que pone en riesgo la viabilidad del binomio (Johnson et al., 2021).

En Venezuela se reportó que las concentraciones de hemoglobina, plaquetas, transaminasas, creatinina, ácido úrico y proteinuria fueron significativamente más altas en casos vs controles ($p < 0.001$). Los casos presentaron valores significativamente más altos de leucocitos ($9.8 \pm 1.7 \times 10^3/\text{mL}$ y $6.5 \pm 1.2 \times 10^3/\text{mL}$) y neutrófilos ($7.7 \pm 1.5 \times 10^3/\text{mL}$) comparado con los controles ($9.3 \pm 1.4 \times 10^3/\text{mL}$ y $6.5 \pm 1.2 \times 10^3/\text{mL}$, respectivamente, $p < 0.05$). En cuanto al conteo de linfocitos, los casos presentaron valores más bajos ($2.0 \pm 0.5 \times 10^3/\text{mL}$) comparado con los controles ($2.4 \pm 0.5 \times 10^3/\text{mL}$; $p < 0.001$) (Reyna-Villasmil, Mejía-Montilla, Reyna-Villasmil, Torres-Cepeda, and Fernández-Ramírez, 2018).

Los anteriores resultados difieren de los observados en la presente investigación, ya que en la población del CIDOCS dichos valores se encontraban más bajos a pesar de estar dentro de los límites, no presentando asociación estadística.

Otros autores han reportado que la anemia en las embarazadas se asocia con amenaza de aborto (13.8% pacientes con anemia vs 5.3% no anémicas). Además, el trabajo de parto pretérmino fue mayor en el grupo con anemia 31.2 vs 10.7% (Flores Venegas, Germes Piña F, and Levario Carrillo, 2019).

En el caso de la población analizada en CIDOCS y el HCC no presentaron diagnóstico de anemia, esto debido en gran parte a los cuidados maternos que llevaron las pacientes; además de ser monitoreadas cada tres meses por un médico materno fetal por lo que es importante resaltar la importancia de acudir con los expertos en el

cuidado obstétrico y fetal. Ninguno de los casos y controles necesitaron ser ingresadas al HCC para su control, todo fue bajo control ambulatorio durante la consulta materno fetal.

CONCLUSIONES

Se lograron reclutar 4 casos vs 50 controles, todos con la firma de consentimiento informado.

Surgió una subclasificación entre los casos, donde el 75% (3) desarrollaron PE y el 25% (1) restante desarrollaron Peds.

Los casos presentaron TA de $153/96.75 \pm 13.11/5.25$ mmHg vs $124/78.42 \pm 18.41/13.43$ mmHg los controles mostrando asociación estadística ($p=0.001$ y $p=0.003$ para tensión sistólica y tensión diastólica, respectivamente).

La creatinina observada fue de 0.59 ± 0.06 vs 1.93 ± 8.60 mg/dL para los casos y controles respectivamente, no presentando asociación estadísticamente significativa ($p=0.759$).

La TGO se fue de 24.00 ± 10.00 vs 28.73 ± 23.70 mg/dL para los casos y controles respectivamente, sin significancia estadística ($p=0.739$).

La TGP observada fue 27.33 ± 17.21 vs 28.21 ± 27.20 mg/dL para los casos y controles respectivamente, sin asociación significativa ($p=0.957$).

El nivel de PtO 24 h en los casos fue de $2,858.8 \pm 4,317.1$ vs 267.5 ± 239.6 mg en los controles, no encontrando asociación significativa al desarrollo de PE ($p=0.316$).

El nivel de hemoglobina observado fue de 11.97 ± 1.51 vs 11.55 ± 1.45 g/dL para los casos y controles respectivamente, no mostrando asociación significativa ($p=0.586$).

El hematocrito presente fue de 36.12 ± 5.12 vs $35.25 \pm 4.01\%$ para los casos y controles respectivamente, no observando significancia estadística ($p=0.684$).

Respecto a los niveles de plaquetas, se observaron 213.50 ± 77.08 vs 226.29 ± 59.48 millones/ mm^3 para los casos y controles respectivamente, no encontrando asociación significativa al desarrollo de PE ($p=0.687$).

Ninguna gestante necesitó hospitalización, gracias al excelente manejo materno fetal de los obstetras.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro total agradecimiento y respeto a las participantes del presente trabajo, a los integrantes de la consulta de medicina materno fetal y a la dirección general del CIDOCS – UAS y del HCC por todas las facilidades otorgadas.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

REFERENCIAS

- ACOG. (2020). Gestational Hypertension and Preeclampsia: ACOG Practice Bulletin, Number 222. *Obstet Gynecol*, 135(6), e237-e260. doi:10.1097/aog.0000000000003891. (Accession No. 32443079)
- Andreeva, T., Komsa-Penkova, R., Langari, A., Krumova, S., Golemanov, G., Georgieva, G. B., . . . Todinova, S. (2021). Morphometric and Nanomechanical Features of Platelets from Women with Early Pregnancy Loss Provide New Evidence of the Impact of Inherited Thrombophilia. *International journal of molecular sciences*, 22(15). doi:10.3390/ijms22157778
- Angüiano-Sánchez, N. V., Perales-Quintana, M. M., Díaz-Olachea, C. G., Cázares-Tamez, R., Pérez-Chávez, F., & Llaca-Díaz, J. M. (2011). Errores en el laboratorio clínico; evaluación de tipos y frecuencias. *Medicina Universitaria*, 13(52), 133-138. Retrieved from <https://www.elsevier.es/en-revista-medicina-universitaria-304-articulo-errores-el-laboratorio-clinico-evaluacion-X1665579611356429>
- Duarte Mote, J., Perez Torres, C., Espinosa López, R., Eng Castro, V. L., Calvo Colindres, J., Sánchez Rojas, G., & Romero Figueroa, M. (2014). Relación de dislipidemias y gravedad en preeclampsia. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social* (52(5)), 516-520.
- ESC/ESH. (2019). Guía ESC/ESH 2018 sobre el diagnóstico y tratamiento de la hipertensión arterial. *Revista Española de Cardiología*, 72(2), 160.e161-160.e178. doi:10.1016/j.recesp.2018.12.005
- Flores Venegas SR, Germes Piña F. and Levario Carrillo M. (2019). Complicaciones obstétricas y perinatales en pacientes con anemia. *Ginecología y obstetricia de México*, 87(2), 85-92. doi: doi.org/10.24245/gom.v87i2.2436
- Hepatopatía y embarazo. (2008). *Progresos de Obstetricia y Ginecología*, 51(5), 321-326. doi:10.1016/S0304-5013(08)71094-X
- IMSS. (2017). *Prevención, diagnóstico y tratamiento de la Preeclampsia en segundo y tercer nivel de atención* (Coordinación de Unidades Médicas de Alta Especialidad Ed.). México: IMSS.
- Johnson, C. Y., Rocheleau, C. M., Howley, M. M., Chiu, S. K., Arnold, K. E., & Ailes, E. C. (2021). Characteristics of Women with Urinary Tract Infection in Pregnancy. *J Womens Health (Larchmt)*, 30(11), 1556-1564. doi:10.1089/jwh.2020.8946
- Lin S, Leonard D, Co MA, Mukhopadhyay D, Giri B. and Perger L, B. M., Kuehl TJ, Uddin MN,. (2015). Pre-eclampsia has an adverse impact on maternal and fetal health. *Translational Research*, 165(4), 449-463. doi:10.1016/j.trsl.2014.10.006
- Mikolasevic I, F. T., Jakopcic I, Majurec I, Brncic-Fischer A, Sobocan N, Hrstic I, Stimac T, Stimac D, Milic S,. (2018). Liver Disease During Pregnancy: A Challenging Clinical Issue. *Medical Science Monitor*, 24, 4080-4090. doi:10.12659/msm.907723
- Nápoles Méndez, D. (2016). Nuevas interpretaciones en la clasificación y el diagnóstico de la preeclampsia. 2016, 20(4). Retrieved from <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-780704>
- Phipps, E. A., Thadhani, R., Benzing, T. and Karumanchi, S. A. (2019). Pre-eclampsia: pathogenesis, novel diagnostics and therapies. *Nature reviews. Nephrology*, 15(5), 275-289. doi:10.1038/s41581-019-0119-6
- Preciado-Duarte, N. Y., Trujillo-Madrigal, D. and Rojas-Espitia, H. F. (2018). Ansiedad, depresión, estrés y apoyo social percibido en el proceso de hospitalización de la sociedad de cirugía Hospital de San José de la ciudad de Bogotá-Colombia. *Psychologia*, 12(1), 71-87. doi: doi.org/10.21500/19002386.3263
- Quintana-Guardo, F., Monterrosa-Castro, Á. and Beltrán-Barrios, T. (2020). Frecuencia de ansiedad preoperatoria y factores asociados en gestantes programadas a cesárea. *Iatreia*, 33(1), 5-16. doi:doi.org/10.17533/udea.iatreia.31.
- Reyna-Villasmil E, M.-M. J., Santos-Bolívar J, Torres-Cepeda D, Navarro-Briceño Y, Reyna-Villasmil N. and Suarez-Torres I,. (2014). Factor de crecimiento vascular endotelial total y Doppler de las arterias uterinas en preeclámpicas y embarazadas normotensas sanas. *Avances en Biomedicina*, 3(2), 76-83. Retrieved from <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=331331850002>
- Reyna-Villasmil, E., Mejía-Montilla, J., Reyna-Villasmil, N., Torres-Cepeda, D. and Fernández-Ramírez, A. (2018). Utilidad diagnóstica de la relación neutrófilos/linfocitos en embarazadas con preeclampsia. *Revista chilena de obstetricia y ginecología*, 83(3), 257-265. doi:dx.doi.org/10.4067/s0717-75262018000300257
- Santiago Márquez, Harold Huamán. and Graciela Artica. (1999). Cohabitación sexual y riesgo de preeclampsia. *Ginecología y Obstetricia*, 45(4), 255-261. Retrieved from <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-270779>

- Segovia Vázquez, M. R. and Álvarez, C. (2018). Criterios de severidad de la enfermedad hipertensiva del embarazo. *Revista del Nacional (Itauguá)*, 10(2), 105-120. doi: doi.org/10.18004/rdn2018.0010.02.105-120
- SSA. (2017). *Prevención, diagnóstico y tratamiento de la Preeclampsia en segundo y tercer nivel de atención* (IMSS Ed.). México: Centro Nacional de Excelencia Tecnológica en Salud.
- Toro Rendon, L. G., Correa Gutiérrez, E. M., Calle Tavera, L. F., Ocampo Mesa, A. and Vélez Cuervo, S. M. (2019). Enfermedades hepáticas y embarazo. *Revista colombiana de Gastroenterología*, 34(4), 385-398. doi:10.22516/25007440.367
- Vázquez Rodríguez, J. G. and Isla Arias, M. X. (2018). Correlación entre ácido úrico y creatinina sérica en pacientes embarazadas con preeclampsia severa. *Ginecología y obstetricia de México*, 86(9), 567-574. doi: doi.org/10.24245/gom.v86i9.1229
- Zuluaga NA, Cuartas JM. and Londoño JG. (2004). Genética de la preeclampsia: una aproximación a los estudios de ligamiento genético. *Biomédica*, 24(2), 207-225. doi: doi.org/10.7705/biomedica.v24i2.1267

Prevalencia de anticuerpos anti-*Salmonella enterica* serovar Typhi en individuos de Culiacán, Sinaloa, México

Prevalence of anti-*Salmonella enterica* serovar Typhi antibodies in individuals from Culiacan, Sinaloa, Mexico

Casal-Rodríguez, K.A.¹, González-Orozco, M.J.¹, Beltrán-López, E.^{1,2}, Uribe-Beltrán, M.J.³, Osuna-Ramírez, I.³, López-Moreno, H.S.^{1*}

¹Laboratorio de Biomedicina Molecular, CAC Biotecnología Biomédica UAS-264, Posgrado en Ciencias Biomédicas y Posgrado en Biotecnología en Salud, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, ²Laboratorio de Análisis Clínicos Universitario "MC. Héctor Cuén Ojeda", Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, ³Unidad de Investigación en Salud Pública, Louis Pasteur, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue estimar la prevalencia de anticuerpos específicos anti-*Salmonella enterica* serovar Typhi en individuos de Culiacán, Sinaloa, México. Se llevó a cabo un estudio transversal en el Laboratorio de Análisis Clínicos Universitario "MC Héctor Cuén Ojeda" de Culiacán, Sinaloa, México, durante el periodo 2009-2010. En este estudio participaron 366 individuos que se acudieron al laboratorio para la obtención de un certificado médico. A los sueros de cada uno de los participantes se les realizó la reacción de Widal. Las muestras Widal-positivas (dilución $\geq 1:160$), fueron analizadas mediante *Western blot* empleando un extracto antigénico de *Salmonella* Typhi (EAST). De los 366 sueros analizados, el 10.11% (n=37) fueron Widal-positivos. La técnica *Western blot* realizada con estos sueros permitió evidenciar los 4 antígenos más inmunorreactivos; 35 (94.6%) detectaron la proteína de 25 kDa; 34 (91.9%) la de 24 kDa e igual número la de 30 kDa; adicionalmente, 33 (89.2%) la de 60 kDa. En conclusión, se obtuvo una seroprevalencia anti-S. Typhi del 10.11%, se identificaron 4 proteínas del EAST con inmunorreactividad elevada (>89%), el antígeno de 25 kDa fue el inmunodominante. Es necesario continuar estudiando las proteínas detectadas, además de ampliar la estimación de la seroprevalencia de S. Typhi, cuya infección mantiene a Sinaloa dentro de los 5 estados con mayor incidencia de Fiebre Tifoidea en México.

Palabras clave: Antígenos, Fiebre Tifoidea, Seroprevalencia, Antígeno Inmunodominante.

ABSTRACT

To estimate the prevalence of specific antibodies against *Salmonella enterica* serovar Typhi (S. Typhi) in individuals from Culiacan, Sinaloa, Mexico. A cross-sectional study was conducted at the University Clinical Analysis Laboratory "MC Héctor Cuén Ojeda" in Culiacán, Sinaloa, Mexico, during the period 2009-2010. In this study, 366 individuals attended the laboratory to obtain a medical certificate. The serum of each individual was obtained and analyzed by Widal agglutination. Positive samples to Widal (dilution 1:160), were tested by Western blotting using an antigenic extract of S. Typhi (AEST). Of 366 sera analyzed, 10.11% (n=37) were Widal-positive. The Western blot developed using these sera revealed four prominent antigens: a 25 kDa protein was recognized by 35 sera (94.6%), 24 kDa and 30 kDa proteins were reactive to the same number of sera, with 34 (91.9%), and 33 (89.2%) recognized a 60 kDa protein. In conclusion, the anti-S. Typhi seroprevalence obtained was 10.11%, and four proteins derived from AEST were identified with high immunoreactivity (>89%), the 25 kDa antigen was the immunodominant. It is necessary to continue studying these detected antigens and increase our knowledge about the estimation of seroprevalence of S. Typhi, whose infection keeps Sinaloa within the 5 states with the highest incidence of Typhoid Fever in Mexico.

Keywords: Antigens, Typhoid Fever, Seroprevalence, Immunodominant antigen

*Autor de correspondencia: Héctor Samuel López Moreno

E-mail: hsmoreno@uas.edu.mx

ORCID ID: [0000-0001-7391-205X](https://orcid.org/0000-0001-7391-205X)

Registro ORCID Autores: CRK: [0000-0002-8907-4035](https://orcid.org/0000-0002-8907-4035), GOM: [0000-0001-7299-3361](https://orcid.org/0000-0001-7299-3361), EBL: [0000-0002-8604-2847](https://orcid.org/0000-0002-8604-2847),

ORI: [0000-0002-4419-0710](https://orcid.org/0000-0002-4419-0710)

Revista online: <https://revistas.uas.edu.mx/index.php/QBU/index>

INTRODUCCIÓN

La Fiebre Tifoidea (FT) es una enfermedad infecciosa sistémica causada principalmente por la bacteria intracelular *Salmonella enterica* serovar Typhi (*S. Typhi*), que afecta exclusivamente al ser humano (Stürchler, 2023; Zhang *et al.*, 2008). Es uno de los principales problemas de salud en el mundo, con mayor impacto en morbilidad y mortalidad en países en vías de desarrollo, donde el acceso al agua potable es limitado, los sistemas sanitarios deficientes y los hábitos higiénico-alimenticios son inadecuados (Farooqui *et al.*, 2009; Mweu & English, 2008; Parry *et al.*, 2011). En este escenario, *S. Typhi* se disemina a través del agua (Farooqui *et al.*, 2009), alimentos u objetos contaminados con heces u orina de personas portadoras de la bacteria (Crump *et al.*, 2004; Crump & Mintz, 2010; Sharma *et al.*, 2009; Stürchler, 2023). Se estima que FT afecta anualmente a unos 27 millones de personas causando 216 mil muertes en el mundo, presentándose con incidencia elevada en países de Asia e intermedia en África y Latinoamérica (Crump *et al.*, 2004; Crump & Mintz, 2010; Ghenghesh *et al.*, 2009; Jadav *et al.*, 2023; Mweu & English, 2008; Stürchler, 2023). Latinoamérica está catalogada como una región de incidencia media de la FT (10-100/100,000 casos anuales) (Crump & Mintz, 2010). En Estados Unidos la FT es una enfermedad rara con aproximadamente 300 casos clínicos reportados anualmente (Lynch *et al.*, 2009). En México se ha presentado un incremento en la incidencia de *S. Typhi*. Según la Secretaría de Salud en el 2022 se registraron 11,762 casos de FT; sólo en el estado de Sinaloa se registraron 1908 del total de casos reportados ese año a nivel nacional (ubicándolo en 3^{er} lugar nacional), y para la semana 41 del 2023 la cifra acumula 11,433 casos (Boletín Epidemiológico, 2023). El grupo etario más afectado es el de adultos jóvenes de 19 a 44 años (Boletín Epidemiológico, 2023). Esto sugiere que es imperante incrementar nuestro conocimiento sobre la epidemiología de esta enfermedad en México y en especial en el estado de Sinaloa, lo cual puede contribuir a mejorar las estrategias para la prevención y control de la FT. Para esto se requieren estudios de seroprevalencia, mediante la detección de anticuerpos específicos, para obtener información complementaria a la reportada por la Secretaría de Salud sobre esta enfermedad que en México afecta a miles de individuos cada año. En el presente trabajo se estimó la prevalencia de anticuerpos anti-*S. Typhi* en individuos que acudieron a realizarse estudios al laboratorio de análisis clínicos de la Universidad Autónoma de Sinaloa durante el año 2009.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población de estudio

Se incluyeron los sueros de 366 individuos aparentemente sanos que acudieron al Laboratorio de Análisis Clínicos Universitario "MC. Héctor Cuén Ojeda", UAS, ubicado en Culiacán, Sinaloa, a practicarse el certificado médico y que hayan tenido la prueba de VDRL (por sus siglas en inglés Venereal Disease Research Laboratory) negativa, la cual se realiza de manera rutinaria en el examen referido. Los participantes dieron su consentimiento informado por escrito para ingresar a este estudio, conservando el anonimato de su identidad y datos personales que fueros excluidos del presente estudio, de acuerdo con el H. Comité de Investigación de la Unidad de Investigaciones en Salud Pública "Dra. Kaethe Willms" de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, UAS. Las muestras fueron obtenidas durante el año 2009 y almacenadas a -20 °C hasta su uso.

Técnica de Widal

El total de los sueros fueron analizados mediante la técnica de Widal, empleando un kit comercial (Bio-Rad), siguiendo las instrucciones del fabricante. Brevemente, se mezcló una gota del reactivo tífico "O" (o tífico "H"), con 10 µL de suero sobre una placa de vidrio. Las micrografías fueron tomadas a 40X en un microscopio triocular Primo Star, Carl Zeiss, empleando una cámara digital Canon de 10 megapíxeles, después de una incubación de 4 min a temperatura ambiente en un agitador orbital (Daigger). La muestra se consideró positiva, si desarrolló aglutinación a un título $\geq 1:160$, como lo sugiere la Guía de Práctica Clínica, Diagnóstico y Tratamiento para la Fiebre Tifoidea del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), basado en los criterios descritos en 2014 por Andualet *et al.* (2014).

Extracto antigénico de *S. Typhi* (EAST)

El extracto antigénico de *S. Typhi* (EAST), se obtuvo mediante sonicación de la biomasa del cultivo en fase logarítmica de un aislado clínico de *S.*

Typhi 00190 (gentilmente donado por el Dr. Vianney Ortiz del CINVESTAV-IPN), disuelta en amortiguador salino de fosfatos (PBS, NaCl 137 mM, KCl 2.7 mM, Na₂HPO₄ 10 mM, KH₂PO₄ 1.76 mM, pH 7.2), suplementado con 20% de un coctel de inhibidores de proteasas (Sigma). El sonicado se centrifugó durante 5 min a 1200 x g en una microcentrífuga (Hettich Mikro 120). Al sobrenadante obtenido se le determinó la concentración de proteínas mediante el método de Bradford (Bio-Rad), siguiendo el protocolo recomendado por el fabricante. El número de bandas proteicas del EAST se contabilizó en

un gel de poliacrilamida al 12 % teñido con azul de Coomassie R-250 (Bio-Rad), siguiendo protocolos estándar.

Western blot

El *Western blot* fue realizado con base en el protocolo descrito por (Salazar-Mejía *et al.* 2010), con algunas modificaciones. Brevemente, 400 µg del EAST fueron separados electroforéticamente a 100 V por 2 h en geles de poliacrilamida al 12 %, en una cámara de electroforesis Mini-Protean Tetra (Bio-Rad), empleando amortiguador de corrida TGS (Tris 25 mM, Glicina 192 mM, SDS 0.1% p/v, pH 8.3; Bio-Rad); las proteínas en el gel fueron transferidas a membranas de nitrocelulosa de 0.22 µm (Hybond-ECL, Amersham), y estas últimas fueron bloqueadas con leche descremada (Nestlé), al 5 %. A continuación, fueron incubadas con los sueros de individuos positivos a Widal, diluidos 1:400, o con los sueros de los testigos a la misma dilución. Posteriormente, las membranas fueron incubadas con anticuerpos anti-IgG humana conjugada a peroxidasa (Bio-Rad) y finalmente, la reacción fue revelada con diaminobencidina (Research Organics) y H₂O₂ (JT Baker) (Salazar-Mejía *et al.*, 2010).

Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo de los datos donde la media, mediana y porcentaje, fueron calculados, así como sus respectivos intervalos de confianza del 95% (IC95%). La distribución de prevalencia de anticuerpos anti-S. Typhi por género y rango de edad se analizó mediante el estadístico Ji-cuadrado de *Pearson* o prueba exacta de *Fisher*, según la distribución de los datos. Un valor *p* menor a 0.05 fue considerado estadísticamente significativo. Los análisis estadísticos se realizaron empleando el software Stata Intercooled 13.1.

RESULTADOS

Seroprevalencia de S. Typhi

Un total de 366 individuos fueron incluidos en este estudio, de los cuales 167 (45.63%, IC95%: 40.44-50.89) correspondieron al género femenino. La edad promedio general fue de 19.6 años (IC95%: 19.22-20.01). Con base en la edad se generaron dos grupos, uno de 15 a 17 con el 30.33% (n=111) de los participantes y otro de 18 o más años (n=255) (Tabla I). A todos los participantes se les colectaron muestras séricas, las cuales fueron analizadas mediante la técnica de Widal (Figura 1), obteniéndose una prevalencia de anticuerpos anti-S Typhi del 10.11% (n=37), 35 sueros positivos al tífico "O", distribuidos por grupo de edad como sigue: de 15-17 años el 1.64 % (n=6); y de 18 o más años, el 7.92 % (n=29); 2 sueros resultaron positivos al tífico

"H", ambos del grupo de edad de 18 o más (0.54 %) (Tabla 2). Al comparar los grupos de edades, se observó que en el de adultos jóvenes (18 o más), hubo un mayor número de sueros positivos al tífico "O" de S. Typhi (n=29), no existió evidencia suficiente en los datos que demuestre que la prevalencia de anticuerpos específicos anti-S. Typhi sea diferente entre adultos jóvenes y menores de 18 años, *p*=0.698.

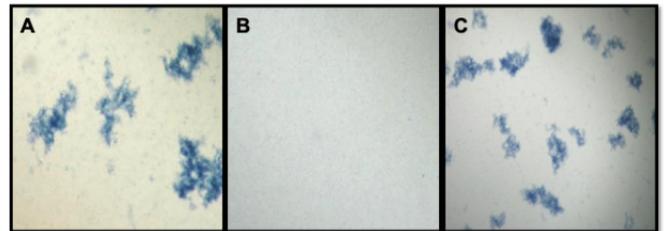


Figura 1. Reacción de Widal para antígeno "O" de S. Typhi. A) Testigo Positivo (Bio-Rad), B) Suero de uno de los individuos sin reactividad, C) Suero de un individuo con reactividad. Los sueros problema y testigo positivo fueron analizados por duplicados a una dilución 1:160. Las micrografías fueron tomadas a 40X en un microscopio triocular Primo Star, Carl Zeiss, empleando una cámara digital Canon de 10 Megapíxeles.

Identificación de antígenos de S. Typhi

Los 37 sueros positivos a Widal fueron evaluados mediante *Western blot* empleando EAST, compuesto de al menos 30 proteínas evidenciadas mediante tinción con azul de Coomassie, cuyos pesos moleculares oscilan desde 180 kDa hasta 15 kDa (Figura 2). Los sueros fueron empleados a una dilución de 1:400. En la Figura 3 se muestra el perfil antigénico del EAST obtenido al revelar las membranas de la técnica de *Western blot* se pudo contabilizar un total de 22 antígenos presentes en el EAST y éstos fueron reconocidos por uno o más de los 37 sueros, pudiendo definir la frecuencia de inmunorreactividad (Figura 3A). Un grupo de 4 antígenos mostraron una elevada inmunorreactividad (>89%), jerarquizados de mayor a menor frecuencia como sigue: 35 (94.6%) sueros detectaron la proteína de 25 kDa; 34 (91.9%) sueros reconocieron a la de 24 kDa; igual número de sueros (34) reaccionaron con la de 30 kDa; y 33 (89.2%) de los sueros con la de 60 kDa (Figuras 3A y 3B).

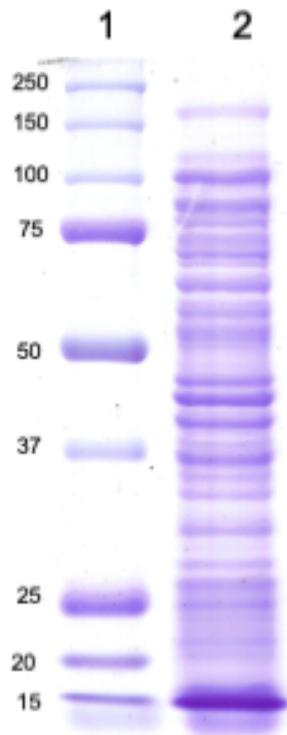


Figura 2. Extracto antigénico de *S. Typhi* (EAST). Perfil proteico resuelto en un gel de poliacrilamida al 12 % teñido con azul brillante de Coomassie R-250. En 1) marcador de peso molecular (Bio-Rad), en 2) EAST donde se pueden observar aproximadamente 30 bandas proteicas individuales con pesos moleculares del rango de 180 hasta 15 kDa.

DISCUSIÓN

La FT, a diferencia de otras enfermedades bacterianas como la brucelosis, en México carece de una normatividad sanitaria oficial que unifique los criterios para su diagnóstico, y aunque el diagnóstico de certeza incluye el aislamiento, identificación bioquímica y serológica de *S. Typhi*, esta resulta una estrategia poco accesible desde el punto de vista técnico-económico en algunas áreas endémicas de países en vías de desarrollo como México; esto hace que la principal alternativa diagnóstica para esta enfermedad sea la técnica de Widal (Parry *et al.*, 2011), que se basa en poner en evidencia anticuerpos séricos anti-*S. Typhi*. Es una prueba de aglutinación de estos anticuerpos dirigidos contra antígenos somáticos (tífico "O") o flagelares (tífico "H"), considerando como clínicamente relevante una reactividad a una dilución sérica de $\geq 1:160$ (Andualet *et al.*, 2014).

Actualmente se carece de estudios que indiquen la seroprevalencia de la FT en México y en particular en Sinaloa. Los estudios de seroprevalencia permiten estimar el contacto de la población estudiada y la bacteria mediante la detección de anticuerpos específicos, contribuyendo al avance de la información reportada por las autoridades de salud, pudiendo impactar en la reducción de la

incidencia de la FT en nuestro país. En este contexto, se estimó la prevalencia de anticuerpos anti-*S. Typhi* en personas adultas jóvenes sinaloenses, atendidas en uno de los laboratorios de análisis clínicos de nuestra universidad, que no presentaban síntomas de la enfermedad, bajo los criterios diagnósticos de la guía clínica del IMSS para el diagnóstico de la FT (Andualet *et al.*, 2014). De las 366 muestras séricas analizadas por Widal, 37 resultaron positivas equivalentes a una seroprevalencia del 10.11%, más de 3 veces el porcentaje reportado para individuos sanos de Nepal (Pokhrel *et al.*, 2009). Es relevante destacar que el 94.59% ($n=35$) de los individuos presentaron anticuerpos aglutinantes al antígeno "O", lo que sugiere que pudieron haber estado en contacto con la bacteria recientemente (Andualet *et al.*, 2014; White *et al.*, 1999). En el análisis de la distribución por género, no se observó diferencia estadística significativa, lo que difiere con los datos mostrados por la SSA, donde el género femenino es el más afectado, registrando prácticamente el doble de casos que el masculino (Boletín Epidemiológico, 2023). Al analizar los resultados por grupo de edad, se observó aproximadamente 5 veces más seropositividad en el grupo de 18 años o más, dato que coincide con lo reportado por la Secretaría de Salud de México, donde los adultos jóvenes son el grupo etario más afectado por la FT, como lo muestra el anuario de morbilidad 2022 de la SS consultado en octubre de 2023.

A fin de conocer el perfil antigénico de *S. Typhi* que sirva de base para un estudio inmunoproteómico más amplio, se analizó la inmunorreactividad mediante *Western blot*, con un 73.3% de reactividad general, esta reducción puede deberse a que en Widal se emplea el suero total que incluye a todos los isotipos de anticuerpos y en el *Western blot* solo se detectan las inmunoglobulinas G (o IgG), destacando un grupo de 4 antígenos con una inmunorreactividad superior al 89%, y que no mostraron inmunorreactividad al incubarlos con sueros negativos a la técnica de Widal, niveles de reactividad comparables a los detectados en pacientes con FT mediante ELISA, reportada por Fadeel *et al.*, (2011). Jerarquizando de mayor a menor la frecuencia la inmunorreactividad se observó que 35 (94.6%) sueros detectaron la proteína de 25 kDa; 34 (91.9%) sueros reconocieron a la de 24 kDa; igual número de sueros (34) (89.2%), reaccionaron con la de 30 kDa; y 33 (89.2%) de los sueros con la de 60 kDa. Basados en el peso molecular de los antígenos detectados en este trabajo se puede considerar que no hubo reactividad contra las porinas (OmpC y OmpF) (Verma *et al.*, 2009), sin embargo, es necesario realizar más estudios para confirmar o descartar este dato. Aunque existe cierta semejanza con los pesos moleculares de las proteínas antigénicas de *S. Typhi* ty2 con pesos moleculares de 66, 55, 35, 33, 18, y 9 kDa reportadas

por (Park JH *et al.*, 2002), ninguna coincide con el peso molecular de 25 kDa, que es el antígeno más prominente detectado en nuestro trabajo. Es importante señalar que los sueros evaluados por estos autores provenían de ratones BALB/c inmunizados y no de seres humanos como en nuestro caso.

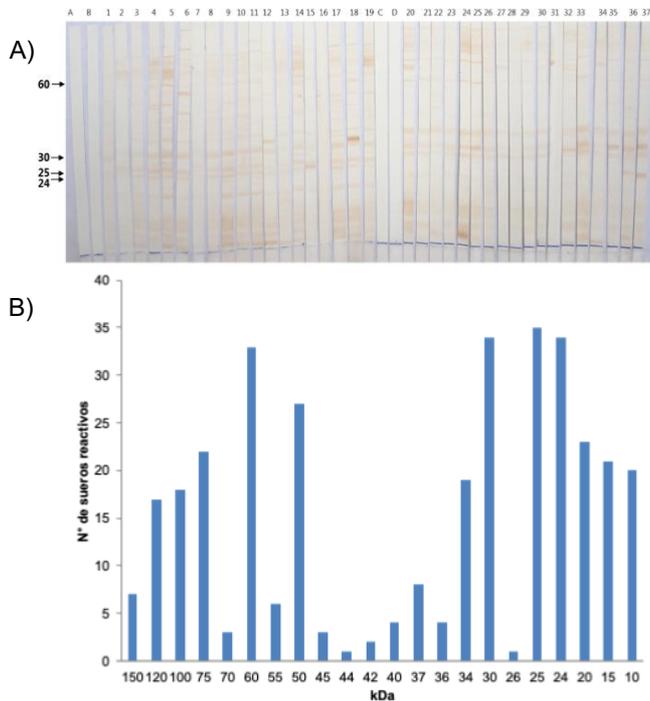


Figura 3. Perfil antigénico del EAST. A) La antigenicidad del extracto proteico de *S. Typhi* muestra 4 bandas antigénicas principales señaladas con flechas, con pesos moleculares de 24, 25, 30 y 60 kDa. Los sueros se evaluaron mediante *Western blot* a una dilución de 1:400. A) 1^{er} blanco; B) 1^{er} testigo negativo sin 1^{er} Anticuerpo (Ab); líneas de la 1 a la 19 corresponden a los sueros de personas positivas a la técnica de Widal; C) 2^o Blanco, D) 2^o testigo negativo sin 1^{er} Ab; líneas de la 20 a la 37 segundo grupo de sueros positivos a Widal. Este resultado es representativo de tres experimentos independientes. B) Frecuencia de reconocimiento antigénico del EAST definida por *Western blot* empleando los 37 sueros positivos a Widal, de ellas las de mayor inmunorreactividad fueron los antígenos de 24 kDa, 25 kDa, 30 kDa y 60 kDa, destacando el antígeno de 25 kDa. Resultado representativo de 3 experimentos independientes.

Este estudio aporta información reciente sobre la prevalencia de anticuerpos específicos contra *S. Typhi* en Culiacán, Sinaloa, México, que puede servir de base para futuras investigaciones. Es necesario continuar los estudios de esta enfermedad en otras poblaciones o comunidades del estado; además, podrían implementarse otras metodologías, como ELISA, para un mayor tamizaje de muestras. Asimismo, es interesante realizar estudios de proteómica para identificar nuevos antígenos que pudieran servir de base para el diseño de un método de diagnóstico óptimo que sea más sensible, específico y asequible que los actuales.

Tabla I. Distribución de los individuos estudiados por género y grupo de edad

	Muestra	%
Total de individuos	366	100
Género		
Masculino	199	54.37
	15 - 17	31.66
	18 - +	68.34
Femenino	167	45.63
	15 - 17	28.74
	18 - +	71.26
En general		
15 - 17	111	30.33
18 - +	255	69.67

CONCLUSIÓN

Se obtuvo una seroprevalencia anti-*S. Typhi* del 10.11%, se identificaron 4 proteínas del EAST con inmunorreactividad elevada (>89%), donde el antígeno de 25 kDa fue el más prominente, ello sugiere una exposición previa con la bacteria vinculada tanto a factores ambientales como a las cálidas temperaturas la mayor parte del año, junto a deficientes hábitos higiénicos y pobres medidas sanitarias en la preparación de alimentos y bebidas consumidas fuera de casa. Es necesario continuar estudiando las proteínas detectadas, además de ampliar la estimación de la seroprevalencia de *S. Typhi*, cuya infección ha posicionado al estado de Sinaloa entre los cinco primeros lugares, consolidando a la FT como un problema de salud pública en México.

Tabla 2. Distribución de los sueros por grupo de edad y resultado positivo a la técnica de Widal (título de anticuerpos $\geq 1:160$)

Grupo de edad en años	Positivos "O" n (%) ^a *	Positivos "H" n (%)
15 - 17	6 ^a (1.64)	0 (0)
18 - +	29 ^b (7.92)	2 ^c (0.54)
Total	35 (9.56)	2 (0.54)

^a3 del género femenino y 3 del masculino; ^b15 del género femenino y 14 del género masculino; ^cLos 2 individuos eran del género masculino; *Sin significancia estadística.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Programa de Fomento y Apoyo a Proyectos de Investigación (PROFAPI)-UAS 2010/75 y al Consejo Nacional de Humanidades Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) Ciencia Básica 2008 N° 107050 por el financiamiento otorgado.

Declaración de conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Aprobación de comité de investigación y de ética

H. Comité de Investigación de la Unidad de Investigaciones en Salud Pública "Dra. Kaethe Willms" de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, UAS.

REFERENCIAS

- Andualem, G., Abebe, T., Kebede, N., Gebre-Selassie, S., Mihret, A. and Alemayehu, H. (2014). A comparative study of Widal test with blood culture in the diagnosis of typhoid fever in febrile patients. *BMC Research Notes*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-653>
- Boletín Epidemiológico, E. (n.d.). *Índice 2 Vigilancia Epidemiológica Semana 41, (2023)*. <http://www.gob.mx/salud/acciones-y-programas/direccion-general>
- Crump, J. A., Luby, S. P. and Mintz, E. D. (2004). The global burden of typhoid fever. In *Bulletin of the World Health Organization* (Vol. 82, Issue 5).
- Crump, J. A. and Mintz, E. D. (2010). Global trends in typhoid and paratyphoid fever. In *Clinical Infectious Diseases* (Vol. 50, Issue 2, pp. 241–246). <https://doi.org/10.1086/649541>
- Fadeel, M. A., House, B. L., Wasfy, M. M., Klena, J. D., Habashy, E. E., Said, M. M., Maksoud, M. A., Rahman, B. A. and Pimentel, G. (2011). *Evaluation of a newly developed ELISA against Widal, TUBEX-TF and Typhidot for typhoid fever surveillance. The Journal of Infection in Developing Countries*, 5(03), 169-175. <https://doi.org/10.3855/jidc.1339>
- Farooqui, A., Khan, A. and Kazmi, S. U. (2009). Investigation of a community outbreak of typhoid fever associated with drinking water. *BMC Public Health*, 9. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-9-476>
- Ghenghesh, K. S., Franka, E., Tawil, K., Wasfy, M. O., Ahmed, S. F., Rubino, S. and Klena, J. D. (2009). *Enteric Fever in Mediterranean North Africa*. 3(10), 753-761. <https://doi.org/10.3855/jidc.606>
- Jadav, P. K., Sukharamwala, P. H., & Mehta, N. T. (2023). Drug Utilization Study in Pediatric Patients with Typhoid Fever. *Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology*, 2(2), 241–247. <https://doi.org/10.55544/jrasb.2.2.34>
- Lynch, M. F., Blanton, E. M., Bulens, S., Polyak, C., Vodjdani, J., Stevenson, J., Medalla, F., Barzilay, E., Joyce, K., Barret, T. and Mintz, E. D. (2009). Typhoid fever in the United States, 1999–2006. *Journal of American Medical Association*, 302(8), 859–865. <https://doi.org/10.1001/jama.2009.1229>
- Mweu, E. and English, M. (2008). Typhoid fever in children in Africa. In *Tropical Medicine and International Health* (Vol. 13, Issue 4, pp. 532–540). <https://doi.org/10.1111/j.1365-3156.2008.02031.x>
- Park JH, Hong JJ, Choi ES, Lee JW. and Park JH. (2002). *Efficacy of purified Vi polysaccharide typhoid vaccine. Journal of Veterinary Science*, 3(2), 67-70. <https://doi.org/10.4142/jvs.2002.3.2.67>
- Parry, C. M., Wijedoru, L., Ariyal, A. and Baker, S. (2011). The utility of diagnostic tests for enteric fever in endemic locations. In *Expert Review of Anti-Infective Therapy* (Vol. 9, Issue 6, pp. 711–725). Expert Reviews Ltd. <https://doi.org/10.1586/eri.11.47>
- Pokhrel, B. M., Karmacharya, R., Mishra, S. K. and Koirala, J. (2009). Distribution of antibody titer against Salmonella enterica among healthy individuals in nepal. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 8. <https://doi.org/10.1186/1476-0711-8-1>
- Salazar-Mejía, P. G., Tejada-Aguirre, C. R. and López-Moreno, H. S. (2010). Reaction of *Leishmania (Leishmania) mexicana* antigens by sera of patients with cutaneous leishmaniasis from Sinaloa, Mexico. *Salud Pública de México*, 52(2), 165–169.

<https://www.saludpublica.mx/index.php/spm/article/view/696>

4

- Sharma, P. K., Ramakrishnan, R., Hutin, Y., Manickam, P. and Gupte, M. D. (2009). Risk factors for typhoid in Darjeeling, West Bengal, India: Evidence for practical action. *Tropical Medicine and International Health*, 14(6), 696–702.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-3156.2009.02283.x>
- Stürchler, D. (2023). Infections transmitted via the faecal–oral route: a simple score for a global risk map. *Journal of Travel Medicine*. <https://doi.org/10.1093/jtm/taad069>
- Verma, S. K., Gautam, V., Balakrishna, K. and Kumar, S. (2009). Overexpression, purification, and immunogenicity of recombinant porin proteins of *Salmonella enterica* serovar Typhi (S. Typhi). *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19(9), 1034–1040. <https://doi.org/10.4014/jmb.0812.675>
- White, N. J., Farrar John Wain, J. J., Tran Chinh, N., Vinh, H., Tinh Hien, T., Parry, C. M., Thi Tuyet Hoa, N., Song Diep, T., Wain, J. and Farrar, J. J. (1999). Diagnosis of Typhoid Fever in Vietnam Value of a Single-Tube Widal Test in Value of a Single-Tube Widal Test in Diagnosis of Typhoid Fever in Vietnam. In *J. Clin. Microbiol.* Downloaded from *Journal of Clinical Microbiology* (Vol. 37, Issue 9). <https://doi.org/10.1128/jcm.37.9.2882-2886.1999>
- Zhang, X.-L., Jeza, V. T. and Pan, Q. *Salmonella Typhi: from a Human Pathogen to a Vaccine Vector. Cell Mol Immunol* 5,91-97(2008).
<https://doi.org/10.1038/cmi.2008.11>
- Instituto Mexicano del Seguro Social. (2016). Guía de Práctica Clínica Diagnóstico y Tratamiento para la Fiebre Tifoidea. Ciudad de México. Disponible en:
https://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/259_GRR.pdf
- Secretaría de Salud. (2022). Anuario de Morbilidad 2022. Distribución de casos nuevos de enfermedad por grupo de edad. Disponible en:
https://epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/2022/morbilidad/enfermedad/distribucion_casos_nuevos_enfermedad_grupo_edad.pdf

Efecto del agente másico de separación en destilación extractiva

Effect of the separation mass agent in extractive distillation

Bañuelos-Ruelas L.C.¹, Hernández-Calderón O.M.¹, Rubio-Castro E.¹, González-Llanes M.D.¹, Ortiz-del-Castillo J.R.^{1*}

¹Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Av. de las Américas S/N, Ciudad Universitaria, 80010, México.

RESUMEN

Procesos especiales de separación son requeridos para lograr separar una mezcla que presenta un azeótropo. En la destilación extractiva se añade un agente másico de separación (o solvente), logrando cambiar las condiciones de equilibrio. Así, es posible eliminar el punto azeotrópico, aunque se agrega un componente a la mezcla y será necesario diseñar un proceso de separación en dos etapas. En el presente trabajo se realizó un análisis termodinámico y de equilibrio para estudiar el efecto del agente de separación utilizado y su proporción en la mezcla etanol-agua, empleando para ello gráficas pseudobinarias. Los solventes probados fueron glicerina, etilenglicol y 1,3-propanodiol. Los cálculos termodinámicos se realizaron con el modelo de solución NRTL (por sus siglas en inglés: non-random two-liquid). Para la simulación rigurosa se empleó el simulador de procesos Aspen Plus (versión 11, Aspen Technology Inc., USA) acoplado al software numérico Matlab (versión 2017, MathWorks, USA). Al aumentar la cantidad de glicerina, el valor promedio de volatilidad aumentó de 3.41 a 5.76. Al aumentar la proporción de etilenglicol, la volatilidad se incrementó de 3.43 a 4.9. Por otro lado, al emplear 1,3-propanodiol, el promedio de volatilidad disminuyó de 2.83 a 2.26. Estos valores mostraron que el 1,3-propanodiol no funciona apropiadamente como agente de extracción, mientras que la glicerina mostró ser ligeramente mejor agente de extracción que el etilenglicol al proporcionar un mayor aumento en la volatilidad relativa.

Palabras clave: Destilación Extractiva, Volatilidad, Azeótropo.

ABSTRACT

Special separation processes are required to achieve the separation of a mixture that exhibits an azeotrope. In extractive distillation, a separation mass agent (or solvent) is added, changing the equilibrium conditions. Thus, it is possible to eliminate the azeotropic point, although an additional component is introduced into the mixture, requiring the design of a two-stage separation process. In this work, a thermodynamic and equilibrium analysis was conducted to study the effect of the separation agent and its proportion in the ethanol-water mixture, using pseudobinary diagrams. The tested solvents were glycerol, ethylene glycol, and 1,3-propanediol. Thermodynamic calculations were performed using the NRTL solution model. For rigorous simulation, the Aspen Plus process simulator (version 11, Aspen Technology Inc., USA) coupled with the Matlab numerical software (version 2017, MathWorks, USA) was employed. Increasing the amount of glycerol led to an increase in the average volatility from 3.41 to 5.76. Increasing the proportion of ethylene glycol resulted in a volatility increase from 3.43 to 4.9. On the other hand, using 1,3-propanediol, the average volatility decreased from 2.83 to 2.26. These values indicated that 1,3-propanediol is not suitable as an extraction agent, while glycerol showed to be a slightly better extraction agent than ethylene glycol by providing a higher increase in relative volatility.

Palabras clave: Extractive Distillation, Volatility, Azeotrope

*Autor de correspondencia: Jesús Raul Ortiz del Castillo

E-mail: jortiz@uas.edu.mx

ORCID ID: [0000-0001-9102-9869](https://orcid.org/0000-0001-9102-9869)

Registro ORCID Autores: OHC: [0000-0002-4216-2409](https://orcid.org/0000-0002-4216-2409), ERC: [0000-0002-4790-5806](https://orcid.org/0000-0002-4790-5806), MGL: [0000-0003-4015-383X](https://orcid.org/0000-0003-4015-383X)

Enviado: octubre 2023

Aceptado: enero 2023

INTRODUCCIÓN

La palabra azeótropo proviene del griego y significa mezcla que no cambia su composición al hervir (Britannica, 2020). En las mezclas azeotrópicas, las composiciones del vapor y del líquido son iguales; por lo que un estado azeotrópico se ha definido como el estado en el cual la composición de cada componente es la misma en cada una de las fases coexistentes (Carravetta *et al.*, 2022). La azeotropía representa una alta no linealidad del equilibrio de fases de mezclas, debido a las fuertes interacciones moleculares (Carravetta *et al.*, 2022). En un diagrama de equilibrio líquido-vapor, un estado azeotrópico puede verse como un punto estacionario en la superficie de equilibrio del diagrama T-xy o el diagrama P-xy (Smith, 2016).

Una forma de mostrar el equilibrio líquido-vapor es empleando diagramas de equilibrio binario. En la Figura 1 se presentan los diagramas de equilibrio de la mezcla tolueno-benceno, la cual es una mezcla ideal que no presenta azeótropo. La separación de esta mezcla se puede lograr en una sola columna de destilación. En la Figura 1a se observa el diagrama de equilibrio T-xy, donde las líneas de equilibrio líquido-vapor se encuentran separadas, lo que indica que es posible separar completamente los componentes. Otra manera común de representar el equilibrio binario, para efectos de diseño, es el diagrama x-y; en la Figura 1b se observa que la línea de equilibrio forma una parábola, lo cual también indica que es posible separar completamente los componentes. En la Figura 1c se puede ver que la volatilidad relativa del benceno sobre el tolueno es prácticamente constante para todo el rango de composición de la mezcla.

Por otro lado, la mezcla etanol-agua presenta un azeótropo. En la Figura 2 se presentan los diagramas de equilibrio de la mezcla etanol-agua. En la Figura 2a se observa la presencia del azeótropo de temperatura mínima a valores de concentración de etanol elevados, lo cual implica la imposibilidad de obtener purezas altas de etanol. Lo mismo se observa en la Figura 2b, donde la parábola toca la línea de referencia (la línea de 45 grados). La Figura 2c muestra que la volatilidad relativa del etanol-agua cambia drásticamente en función de la composición de la mezcla; teniendo valores muy altos a bajas concentraciones de etanol, y valores bajos en altas concentraciones de etanol. En este diagrama, el punto azeotrópico se muestra cuando la volatilidad llega a 1.

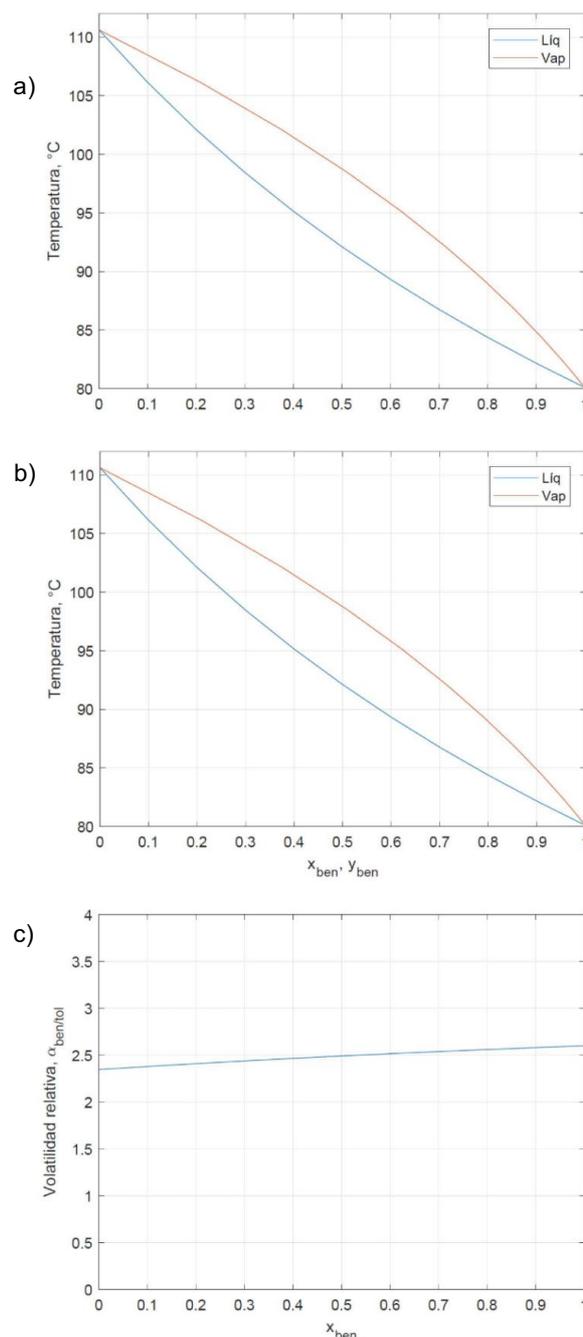


Figura 1. Diagramas de equilibrio de la mezcla tolueno-benceno: a) T-x,y, b) x-y, c) volatilidad relativa-x.

En el diseño de procesos de separación, la destilación es la metodología preferida; sin embargo, cuando se presenta un azeótropo, es necesario emplear técnicas adicionales para lograr la separación. Una de ellas es la destilación extractiva, donde se utiliza un agente másico de separación para cambiar las condiciones de equilibrio y lograr la separación completa. Los factores que afectan la destilación extractiva son la selección del agente de extracción y la cantidad a emplear del mismo. La selección de un buen agente de extracción

logra incrementar convenientemente la eficiencia de la destilación extractiva y reducir el gasto energético. Debido a que la destilación extractiva tiene problemas del uso de grandes cantidades de solvente (agente de extracción), así como altos consumos de energía y baja eficiencia, se han desarrollado y optimizado solventes de alto rendimiento para mejorar esta situación (Pan *et al.*, 2019). Es por ello que es necesario realizar una selección del solvente considerando un análisis de equilibrio. Se han publicado trabajos (Luyben, 2008; Arenas-Grimaldo *et al.*, 2024) donde se demuestra que la elección del solvente afecta, incluso, el desempeño dinámico del sistema de separación.

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la selección del agente másico de separación, así como la cantidad empleada para realizar el rompimiento del punto azeotrópico de la mezcla etanol-agua, logrando una separación de las especies completa (con un 99.9% de pureza). Este análisis de las separaciones se realizó a partir de sus propiedades termodinámicas y de equilibrio.

El equilibrio de fases establece la igualdad de los potenciales químicos de cada componente en cada fase en contacto (Gil *et al.*, 2014). Para poder modelar el equilibrio adecuadamente, es necesario establecer el tipo de componentes en la mezcla y las condiciones de operación. En el equilibrio líquido-vapor, a presiones bajas y teniendo componentes no polares, se puede modelar el equilibrio empleando la ley de Raoult (Gil *et al.*, 2014). Pero en el caso de tener componentes polares, la parte de líquido no es ideal y se ajusta empleando un modelo de solución. Son estas mezclas no ideales las que presentan los azeótropos, por ello, para representar correctamente la mezcla etanol-agua, se requiere emplear un modelo de solución.

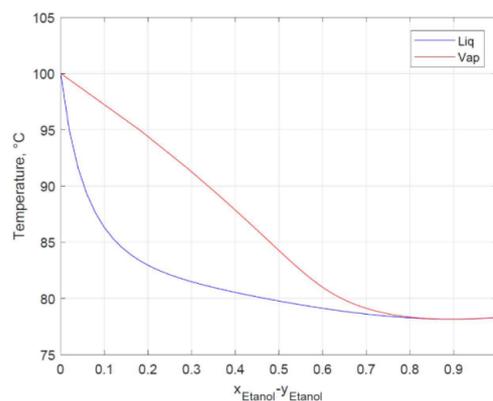
Teoría de modelos de solución

La expresión que modela el equilibrio líquido-vapor a presiones bajas y moderadas para mezclas polares es conocida como ley de Raoult modificada, y puede ser presentada por la siguiente ecuación (Smith *et al.*, 2008):

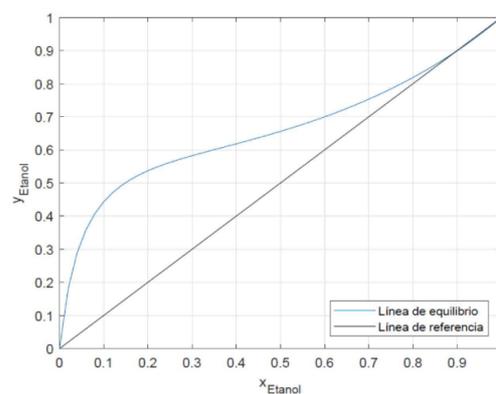
$$y_i P = x_i \gamma_i P_i^{sat} \quad (1)$$

donde y_i es la composición en fase vapor del componente i , P es la presión del sistema, x_i es la composición en fase líquida del componente i , γ_i es el coeficiente de actividad del componente i , y P_i^{sat} es la presión de vapor del componente i .

a)



b)



c)

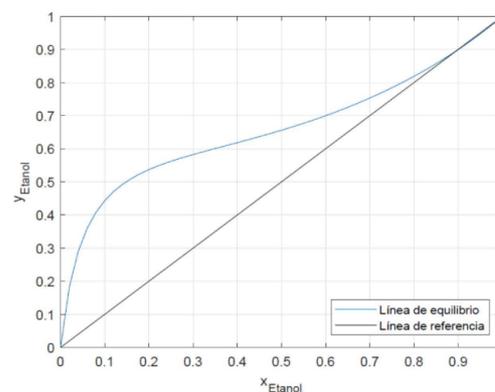


Figura 2. Diagramas de equilibrio de la mezcla etanol-agua: a) T-x, y; b) x-y; c) volatilidad relativa-x.

El coeficiente de actividad es una medida de la desviación de la idealidad de la mezcla, y es función tanto de la temperatura como de la composición. Las ecuaciones que se emplean para ajustar los valores de los coeficientes de actividad se llaman modelos de solución. Actualmente, se cuenta con un gran número de ecuaciones que permiten correlacionar los coeficientes de actividad con la temperatura y la composición, muchas de ellas basadas en modelos

teóricos de interacción entre moléculas y otras más de origen meramente empírico.

Para la mezcla etanol-agua, se ha reportado que el modelo de solución NRTL (Non-Random Two-Liquid) es el más apropiado para ajustar el coeficiente de actividad (Lauzurique-Guerra *et al.*, 2017; Zhu *et al.*, 2020; Frolkova *et al.*, 2021; Plesu-Popescu *et al.*, 2021; Salman *et al.*, 2023; Arenas-Grimaldo *et al.*, 2024).

El modelo de solución NRTL (Non-Random Two-Liquid) introduce la idea de composición local desarrollada por Wilson en la que los múltiples tamaños moleculares y las fuerzas de interacción entre moléculas no permiten desarrollar una distribución completamente al azar de las moléculas de los componentes presentes en un sistema, generando composiciones locales. Este modelo NRTL fue propuesto por Renon y Prausnitz (Smith *et al.*, 2008) y es una herramienta para describir la actividad y el coeficiente de distribución de componentes en mezclas líquidas no ideales.

El modelo NRTL se basa en la suposición de que las interacciones moleculares en una mezcla líquida no son aleatorias y que los efectos de la no idealidad pueden ser descritos mediante la introducción de parámetros de interacción entre los componentes. Estos parámetros describen las fuerzas atractivas y repulsivas entre las moléculas en la mezcla. El modelo utiliza una ecuación que relaciona el coeficiente de actividad de un componente con los coeficientes de distribución de los demás componentes en la mezcla. La ecuación tiene en cuenta los parámetros de interacción mencionados anteriormente, así como las fracciones molares de los componentes en la mezcla.

El modelo NRTL ha demostrado ser útil en la predicción de propiedades termodinámicas y de equilibrio en sistemas de mezclas líquidas no ideales, como la destilación y la extracción líquido-líquido. Ya que la destilación extractiva combina estas dos técnicas de separación, el modelo NRTL resulta apropiado. El método NRTL incluye tres parámetros para un sistema binario y se escribe como:

$$\frac{G^E}{x_1 x_2 RT} = \frac{G_{21} \tau_{21}}{x_1 + x_2 G_{21}} + \frac{G_{12} \tau_{12}}{x_2 + x_1 G_{12}}$$

$$\ln \gamma_1 = x_2^2 \left[\tau_{21} \left(\frac{G_{21}}{x_1 + x_2 G_{21}} \right)^2 + \frac{G_{12} \tau_{12}}{(x_1 + x_2 G_{21})^2} \right]$$

$$\ln \gamma_2 = x_1^2 \left[\tau_{12} \left(\frac{G_{12}}{x_2 + x_1 G_{12}} \right)^2 + \frac{G_{21} \tau_{21}}{(x_2 + x_1 G_{12})^2} \right]$$

En este caso:

$$G_{12} = \exp(-\alpha \tau_{12}) \quad G_{21} = \exp(-\alpha \tau_{21})$$

y

$$\tau_{12} = \frac{b_{12}}{RT} \quad \tau_{21} = \frac{b_{21}}{RT}$$

donde α , b_{12} y b_{21} , son parámetros físicos para un par de especies en particular dependientes de la composición y temperatura.

Los parámetros del modelo NRTL para la mezcla etanol-agua se ajustaron de la base de datos DECHEMA (Gmehling *et al.*, 2014).

MATERIALES Y MÉTODOS

Para realizar este trabajo de simulación fue necesario el uso de computadoras con alta velocidad de procesamiento (procesador AMD Ryzen 9 5900X) y alta capacidad de memoria RAM (64 GB), ubicadas en el Laboratorio de Simulación de Procesos de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas. Como software de tratamiento numérico para graficar y optimizar, se empleó Matlab versión 2017 de la compañía Mathworks, USA. Para la obtención de datos termodinámicos, así como la realización de las simulaciones rigurosas de procesos, se empleó el software Aspen Plus Versión 11 de la compañía Aspen Technology, USA.

Se seleccionó como caso de estudio una mezcla azeotrópica insensible a los cambios de presión, siendo esta la mezcla etanol-agua. La separación de la mezcla etanol-agua tiene un amplio interés, ya que el bioetanol se obtiene por fermentación acuosa. En el proceso de fermentación, la concentración de etanol alcanza un promedio entre el 10% y el 12% (v/v) como máximo (Tse *et al.*, 2021); y para poder emplearlo como biocombustible, debe estar libre de agua, por lo que la separación debe ser completa, con una pureza del 99.9% (Janković *et al.*, 2024).

Se compararon tres agentes de extracción para la mezcla en estudio: glicerina, etilenglicol y 1,3-propanodiol. Se elaboraron los diagramas de equilibrio para comparar la volatilidad relativa empleando cada solvente.

Las gráficas de equilibrio pseudobinarias (3) se elaboraron para diferentes proporciones de solvente añadido. Estas gráficas fueron:

1. Gráficas T vs x, y. (3)
2. Gráficas x vs y. (4)
3. Gráficas de volatilidad relativa vs x.

El análisis que se realiza en cada tipo de gráfica se describe a continuación:

a) Gráficas T-x, y: Con ellas se analiza el punto azeotrópico y cómo se va separando al tener una mayor proporción del solvente, pero también se aprecia cómo cambia la temperatura por la proporción de solvente añadido.

b) Gráficas x-y: Es la gráfica más común en el diseño de separaciones binarias. El azeótropo cruzaría la línea de 45 grados; en ella se analiza que al agregar el solvente se rompe el azeótropo al no cruzar la línea; sin embargo, en este tipo de gráfica no se aprecia el perfil de temperaturas.

c) Gráficas de volatilidad relativa-x: La volatilidad relativa entre los componentes a separar es función de la composición que se tiene; en el punto azeotrópico, cruza el valor de 1. En esta gráfica se analiza la proporción de solvente necesaria para que todos los valores sean mayores a 1. También se analiza la región de valores obtenidos, porque, aunque se rompa el azeótropo, sigue existiendo una gran varianza para diferentes composiciones.

Todas las gráficas se elaboraron con el software Matlab 2017 a partir de los resultados obtenidos en Aspen Plus V11, empleando para los cálculos termodinámicos el modelo de solución NRTL, cuyos parámetros de interacción se obtuvieron de la base de datos DECHEMA (Souza *et al.*, 2013).

RESULTADOS

En la Figura 3 se muestran los diagramas de equilibrio pseudobinarios T-x,y a diferentes proporciones para los solventes estudiados (1,3-propanodiol, etilenglicol y glicerina). Se puede apreciar que, a medida que se aumenta la proporción del agente, se facilita la separación entre el etanol y el agua, eliminando el azeótropo cuando se emplean los solventes etilenglicol y glicerina, mientras que el 1,3-propanodiol va desplazando el punto azeotrópico. Sin embargo, se observa que esto ocurre a temperaturas más altas, por lo que se requerirá mayor energía para separar el agente y volver a emplearlo.

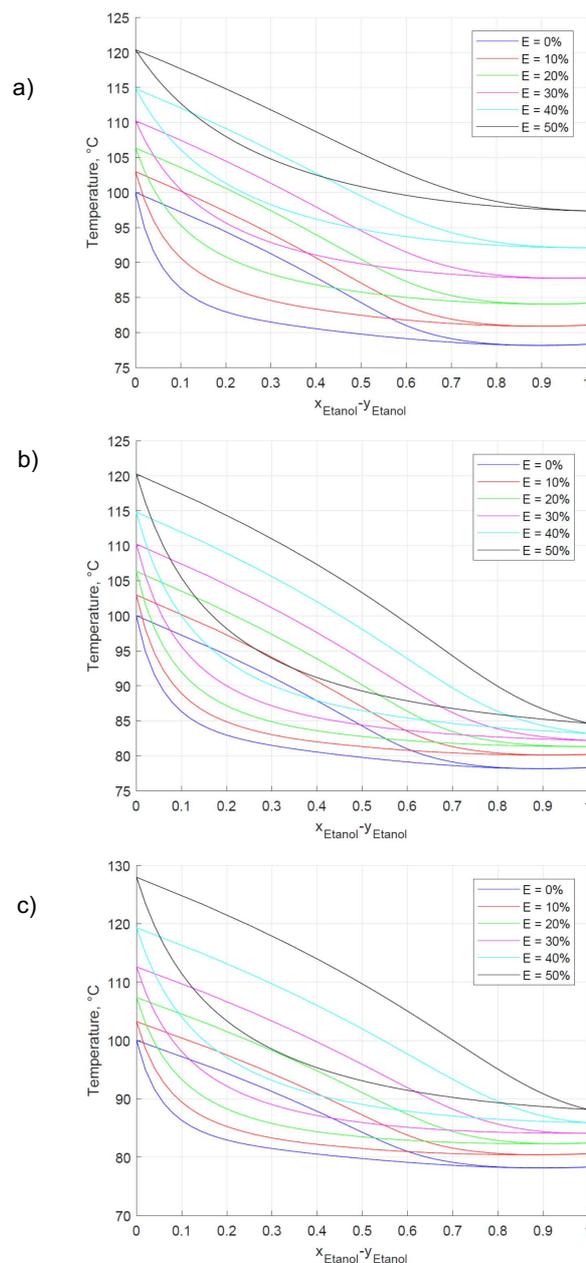


Figura 3. Gráficas pseudobinarias T-x,y a diferentes proporciones para los solventes: a) 1,3-propanodiol, b) etilenglicol y c) glicerina

En la Figura 4 se presentan los diagramas pseudobinarios x-y. En esta figura, también se aprecia que al aumentar la concentración del solvente se facilita la separación, siendo menor la mejoría cuando se emplea 1,3-propanodiol. Los diagramas x-y son normalmente empleados para métodos gráficos binarios; sin embargo, en las líneas, no se puede saber el valor de la temperatura que le corresponde porque la separación se logra al aumentar el solvente, pero en un rango

de temperatura diferente. Por eso, es necesario analizar la Figura 4 en conjunto con la Figura 3.

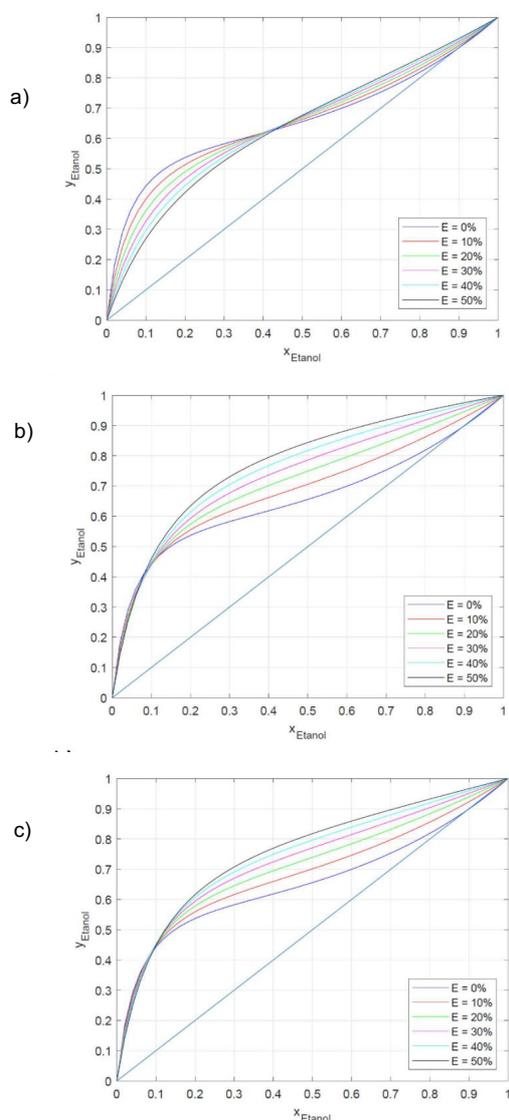


Figura 4. Gráfica pseudobinaria x-y a diferentes proporciones para los solventes: a) 1,3-propanodiol, b) etilenglicol y c) glicerina.

La volatilidad relativa en una mezcla azeotrópica cambia grandemente en función de la composición, llegando a ser 1.0 en el azeótropo. Este punto azeotrópico indica que la separación del componente es imposible. En una mezcla binaria azeotrópica, la volatilidad en función de la composición cruza por el valor de 1, ya que el componente cambia tanto su volatilidad que pasa de ser el pesado a ser el ligero y viceversa.

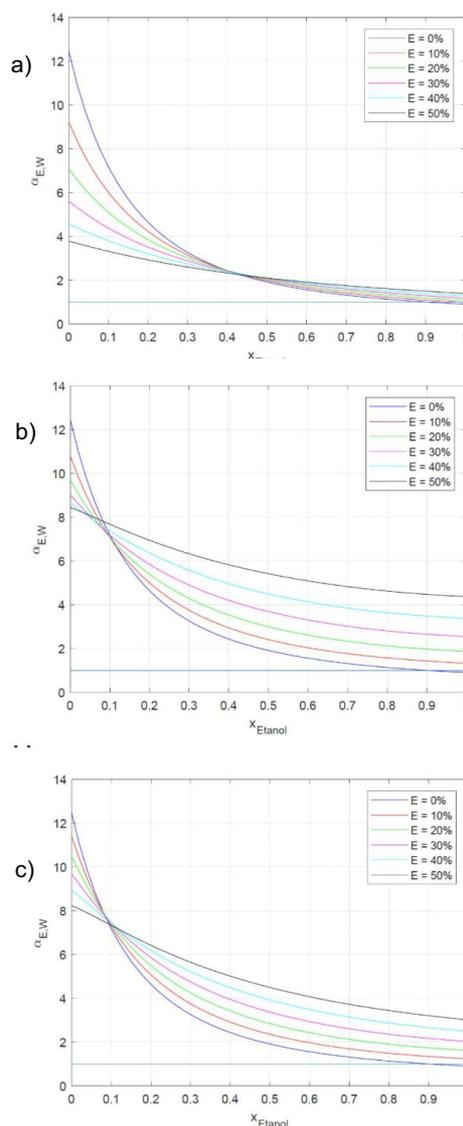


Figura 5. Gráfica volatilidad relativa vs x a diferentes proporciones para los solventes: a) 1,3-propanodiol, b) etilenglicol y c) glicerina

En la Figura 5 se muestra la volatilidad relativa de la mezcla pseudobinaria etanol-agua a diferentes proporciones de los solventes. En dicha figura se aprecia que, al aumentar la cantidad de solvente, la varianza de la volatilidad disminuye y se aleja del 1, indicando que el azeótropo es superado desde valores pequeños de agente de extracción, en el caso de emplear el etilenglicol y la glicerina como solventes. Usando como solvente 1,3-propanodiol, no se logra alterar el azeótropo lo suficiente como para ser seleccionado como un buen solvente (Figura 5a).

DISCUSIÓN

El empleo de un agente de extracción apropiado permite la eliminación del punto azeotrópico. Sin embargo, los valores de volatilidad siguen siendo muy diferentes para poder ser considerados como constantes, algo que se asume en mezclas ideales, y es por ello que el diseño de la secuencia de separación sigue siendo no convencional, requiriendo configuraciones más complejas (Luyben, 2015). Sin embargo, con el empleo de un solvente es posible separar los componentes de la mezcla original en productos puros.

Vásquez *et al.* (2007) presentaron un trabajo sobre destilación extractiva de la mezcla etanol-agua donde emplearon varios solventes, pero utilizaron una sola concentración de solvente (10%). Además, reportan un solo valor de volatilidad relativa, siendo 1.57 al emplear etilenglicol. Este valor corresponde a una sola composición, lo cual es inapropiado, como se mostró aquí en la Figura 5, donde se muestra que la volatilidad varía en todo el rango de composición. López-Navarro (2018) propone a la volatilidad relativa como criterio importante en la selección de solvente. Sin embargo, también solo emplean una proporción de solvente, y reportan el valor de 2.6393 para la volatilidad relativa cuando se emplea glicerina y 2.6203 cuando se emplea etilenglicol.

En la Tabla 1 se presentan los valores de la volatilidad relativa promedio de la mezcla etanol-agua cuando son añadidas diferentes proporciones de solvente. Los valores promedios obtenidos en el presente trabajo son mayores en todas las proporciones de solvente a los mostrados en los trabajos previos. También en la tabla se puede observar que el valor del promedio de la volatilidad va aumentando al aumentar la proporción de glicerina (de 3.41 a 5.76) o etilenglicol (de 3.43 a 4.9), mientras que al emplear 1,3-propanodiol el promedio disminuye (de 2.83 a 2.26). Esto indica que el 1,3-propanodiol no es un agente de separación adecuado, mientras que la glicerina es el que mejor ayuda en la separación al proporcionar el mayor promedio de volatilidad.

Es importante agregar que, aunque el aumento de la proporción de solvente beneficia la separación, no es conveniente usar grandes cantidades, ya que posterior a la separación del etanol, será necesaria la recuperación del solvente, generando un gasto energético.

Tabla 1. Valor promedio de la volatilidad relativa etanol-agua

COMPONENTE	PORCENTAJE DE SOLVENTE EMPLEADO					
	0%	10%	20%	30%	40%	50%
1,3-propanodiol	3.1157	2.8335	2.6286	2.4746	2.3548	2.2571
Etilenglicol	3.1157	3.4304	3.7750	4.1402	4.5190	4.9025
Glicerina	3.1157	3.4102	3.8189	4.3437	4.9899	5.7647

CONCLUSIONES

Es posible realizar la separación de la mezcla azeotrópica etanol-agua en sus componentes puros, considerando la selección del agente de separación adecuado. La elección del solvente apropiado se llevó a cabo mediante el análisis de las propiedades de equilibrio, al comparar la facilidad de separación que se obtendría con cada solvente. El 1,3-propanodiol no sirve como agente de extracción para romper el azeótropo, mientras que tanto el etilenglicol como la glicerina lograron la eliminación del punto azeotrópico. La glicerina demostró ser el mejor agente de extracción al facilitar la separación, ya que se obtuvieron las mayores volatilidades relativas al emplearla, en comparación con las obtenidas al utilizar etilenglicol. Los valores de volatilidad promedio obtenidos fueron mayores en todos los casos en comparación con los reportados en las referencias, ya que no consideran la variabilidad en la volatilidad en todo el rango de composiciones.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Universidad Autónoma de Sinaloa por el apoyo económico otorgado para la realización de este proyecto a través del Programa de Fomento y Apoyo a Proyectos de Investigación (PROFAPI), con el proyecto PRO_A8_001.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores de este trabajo declaran que no existe ningún conflicto de interés en la publicación de los resultados.

REFERENCIAS

- Arenas-Grimaldo, C., Guerrero, J. G. A., Guerrero, C. E. M. and Segovia-Hernández, J. G. (2024). Design and control of a distillation sequence for the purification of bioethanol obtained from sotol bagasse (*Dasylirium* sp.). *Chemical Engineering Research and Design*, 203, 11-17. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2023.12.039>.

- Britannica, T. Editors of Encyclopaedia. (2020). azeotrope. Encyclopedia Britannica. <https://www.britannica.com/science/azeotrope>. Acceso: Diciembre 20, 2023.
- Carravetta, V., de Abreu Gomes, A. H., Marinho, R. D. R. T., Öhrwall, G., Ågren, H., Björneholm, O. and de Brito, A. N. (2022). An atomistic explanation of the ethanol–water azeotrope. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 24(42), 26037-26045. <https://doi.org/10.1039/D2CP03145K>.
- Frolkova, A., Frolkova, A. and Gaganov, I. (2021). Extractive and auto-extractive distillation of azeotropic mixtures. *Chemical Engineering & Technology*, 44(8), 1397-1402. <https://doi.org/10.1002/ceat.202100024>.
- Gil, I. D.; García L. C. and Rodríguez G. (2014). Simulation of ethanol extractive distillation with mixed glycols as separating agent. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 31, 259 – 270. <https://doi.org/10.1590/S0104-66322014000100024>.
- Janković, T., Straathof, A. J. J., McGregor, I. R. and Kiss, A. A. (2024). Bioethanol separation by a new pass-through distillation process. *Separation and Purification Technology*, 336, 126292. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2024.126292>.
- Lauzurique-Guerra, Y., Pérez-Ones, O., Zumalacárregui-de Cárdenas, L. and Rojas-Mateo, D. (2017). Simulación de la destilación extractiva con sales para la obtención de etanol deshidratado. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 16(3), 1053-1064. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62053304029>.
- López-Navarro, D. L. (2018). Criterios de selección para un agente material de separación en un proceso de deshidratación de etanol por destilación extractiva, *Revista Semilleros: Formación Investigativa*, 4(1). <https://hdl.handle.net/20.500.11839/7735>.
- Luyben, W. L. (2008) Effect of solvent on controllability in extractive distillation. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 47(13), 4425-4439. <https://doi.org/10.1021/ie701757d>.
- Luyben, W. L. (2015) Improved design of an extractive distillation system with an intermediate-boiling solvent. *Separation and Purification Technology*, 156, 336-347. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2015.10.020>.
- Pan, Q., Shang, X., Li, J., Ma, S., Li, L. and Sun, L. (2019). Energy-efficient separation process and control scheme for extractive distillation of ethanol-water using deep eutectic solvent. *Separation and Purification Technology*, 219, 113-126. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2019.03.022>.
- Plesu-Popescu, A. E., Pellin, J. L., Bonet, J. and Llorens, J. (2021). Bioethanol dehydration and mixing by heterogeneous azeotropic distillation. *Journal of Cleaner Production*, 320, 128810. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.128810>.
- Salman, M., Javed, N., Liu, X. and He, M. (2023). Azeotrope separation of ethyl propionate and ethanol by extractive distillation and pressure swing distillation method. *Separation and Purification Technology*, 311, 123361. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2023.123361>.
- Smith, J., Van Ness, H. C. and Abbott, M. M. (2008). *Introducción a la Termodinámica en Ingeniería Química*. 7a. ed. McGraw-Hill Interamericana.
- Smith, R. (2016). *Chemical Process Design and Integration*. 2nd Edition. Jhon Wiley & Son, England.
- Souza, W. L. R., Silva, C. S., Meleiro, L. A. C. and Mendes, M. F. (2013). Vapor–liquid equilibrium of the (water+ethanol+glycerol) system: experimental and modelling data at normal pressure. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, 67, 106-111. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2013.07.012>
- Tse, T. J., D. J. Wiens. and M. J. T. Reaney. (2021). Production of bioethanol—A Review of factors affecting ethanol yield. *Fermentation*, 7(4): 268. <https://doi.org/10.3390/fermentation7040268>.
- Vásquez, C., Ruiz, C., Arango, D., Caicedo, R., Sánchez, M., Ríos, L. and Restrepo, G. (2007). Producción de etanol absoluto por destilación extractiva combinada con efecto salino. *Dyna*, 74(151), 53-59. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49615107>.
- Zhu, Z., Yu, X., Ma, Y., Yang, J., Wang, Y., Cui, P. and Li, X. (2020). Efficient extractive distillation design for separating binary azeotrope via thermodynamic and dynamic analyses. *Separation and Purification Technology*, 238, 116425. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2019.116425>.

Generación de biogás por digestión anaerobia a partir de nopal (*Opuntia ficus-indica*) y nejayote

Biogas generation by anaerobic digestion from prickly pear cactus (*Opuntia ficus-indica*) and nejayote

Villapudua Rivera L.F.¹, Sandoval Rojas I.², Chávez Parga M.C.^{2*}

¹ Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Ciencias Químico-Biológicas Calle Josefa Ortiz de Domínguez esq. Ave. de Las Américas, Ciudad Universitaria, Culiacán Rosales, Sinaloa, ²Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ingeniería Química. Francisco J. Mujica SN, Edificio V1 – CU. Morelia, Michoacán.

RESUMEN

En México, la comercialización del nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*) y la producción de tortillas generan residuos agrícolas y subproductos como resultado de su amplio consumo. Los restos de la cosecha del nopal, y el nejayote un subproducto del proceso de elaboración de tortillas, representan una oportunidad para ser empleados como sustratos en la digestión anaerobia (DA) para la generación de biogás. Este estudio se enfoca en analizar el porcentaje y gasto energético del biogás obtenido mediante esta práctica sostenible y su impacto en la gestión de residuos y producción de energía renovable. Se utilizó un Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente (RAFA) a escala piloto para llevar a cabo la DA. Este mismo fue alimentado semanalmente con residuos pretratados de penca de nopal y nejayote. Durante el estudio, se monitorearon diversos parámetros fisicoquímicos para evaluar el desempeño del proceso, pH, conductividad, alcalinidad, relación alfa, sólidos totales y sólidos totales volátiles. Mediante un cromatógrafo de gases BUCK Scientific®, se determinó que el biogás generado contiene un 62% de metano (CH₄), y un 38% de CO₂; con un rendimiento de 195 NmL/gSV y 300 NmL/gSV, al ser el proceso de adaptación se puede ver como una fuente de energía renovable, destacando su potencial como fuente de energía renovable. Sin embargo, el análisis del gasto energético necesario para el mantenimiento y alimentación del reactor, comparado con la energía neta generada por el biogás, indicó que la producción de biogás a base de nopal y nejayote es un proceso sostenible. Semanalmente, se produjeron 0.0581 kW – 0.06279 kW de energía y se emplearon 16.652 kW. Es relevante considerar que el reactor estaba en una etapa de adaptación, en la cual tanto la escala del reactor, la frecuencia de alimentación y la variabilidad de las magnitudes monitoreadas pueden influir en la cantidad del biogás producido.

Palabras clave: Digestión anaerobia, Biogás, Nopal, Nejayote.

ABSTRACT

In Mexico, the marketing of prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) and the production of tortillas generate agricultural waste and by-products as a result of their widespread consumption. The residues from the prickly pear harvest and nejayote, a by-product of the tortilla-making process, present an opportunity to be utilized as substrates in anaerobic digestion (AD) for biogas generation. This study focuses on analyzing the percentage and energy expenditure of the biogas obtained through this sustainable practice and its impact on waste management and renewable energy production. A pilot-scale Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) reactor was used to perform AD. It was fed weekly with pre-treated waste from prickly pear pads and nejayote. Various physicochemical parameters were monitored during the study to assess process performance, including pH, conductivity, alkalinity, alpha ratio, total solids, and volatile solids. Using a BUCK Scientific® gas chromatograph, it was determined that the generated biogas contains 62% methane (CH₄) and 38% CO₂, with a yield of 195 NmL/gVS and 300 NmL/gVS. As the adaptation process progressed, it became evident as a source of renewable energy, highlighting its potential in the renewable energy sector. However, the analysis of the energy expenditure required for reactor maintenance and feeding, compared to the net energy generated by biogas, indicated that prickly pear and nejayote-based biogas production is a sustainable process. Weekly, 0.0581 kW to 0.06279 kW of energy was produced, utilizing 16.652 kW. It is relevant to consider that the reactor was in

*Autor de correspondencia: María del Carmen Chávez Parga

E-mail: cparga@umich.mx

ORCID ID: [0000-0001-7500-7571](https://orcid.org/0000-0001-7500-7571)

Registro ORCID Autores: ISR: [0000-0002-4887-049X](https://orcid.org/0000-0002-4887-049X), LVR: [0009-0002-2962-2615](https://orcid.org/0009-0002-2962-2615)

an adaptation stage, during which the reactor scale, feeding frequency, and the variability of monitored parameters can influence the quantity of biogas produced.

Palabras clave: Anaerobic Digestion, Biogas, Prickly Pear (nopal), Nejayote

INTRODUCCIÓN

En la búsqueda de soluciones sostenibles para abordar los desafíos ambientales y energéticos, la generación de biogás mediante la digestión anaerobia funge como una prometedora alternativa para la producción de energía renovable y la gestión adecuada de residuos orgánicos. En México, tradicionalmente se suele consumir productos como nopal (*Opuntia ficus-indica*) y tortillas, mismos que durante su producción generan residuos. En el caso de las tortillas se forma el nejayote durante el proceso de cocción del maíz y la cal, lo que lo hace un residuo bastante alcalino. Los desechos del nopal y el nejayote poseen un potencial significativo para la generación de biogás, gracias a su alto contenido de materia orgánica. El nopal destaca, principalmente, por su presencia de carbohidratos (12-17%) (Cota-Sánchez, 2018), mientras que el nejayote por su composición de carbohidratos (37.8-55.7%) y proteínas (4.9-7.4%) (Díaz-Montes y Castro-Muñoz, 2021).

En la actualidad, no existen estudios que determinen el rendimiento de la generación de biogás mediante una codigestión entre nopal y nejayote; sin embargo, en la Tabla 1 se presentan algunos trabajos donde se lleva a cabo este proceso usando nopal y nejayote por separado.

Como se puede observar, los estudios que usan nopal como sustrato presentan un rendimiento similar entre ellos y menor en comparación con los que utilizan nejayote. A pesar de esto, se pretende emplear el residuo de nopal como sustrato en la codigestión, con el objetivo de proporcionar una visión más amplia y una opción adicional para el aprovechamiento adecuado de residuos orgánicos.

Otro punto importante a tomar es el pre tratamiento que recibe la alimentación, en el caso del nopal, es recomendable añadir un alcalinizante debido a que la acidez del nopal en conjunto con la formación de ácidos orgánicos en la acidogénesis puede afectar negativamente el rendimiento del biogás (Parra-Orobio *et al.*, 2014). Al momento de hacer una co-digestión entre nopal y nejayote, la alcalinidad de este último es favorable para reducir la necesidad de controlar el pH mediante un alcalinizante.

Igualmente, controlar la temperatura es vital para los microorganismos presentes en todas las fases de la digestión anaerobia (hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis), pues se ha

comprobado que las temperaturas de condiciones mesófilicas (30-40 °C) tienen un mejor desempeño que las temperaturas de condiciones termófilicas (50-60 °C) (Yin *et al.*, 2018).

El propósito de este estudio fue determinar la concentración de metano en el biogás durante el proceso de adaptación en un reactor RAFA, alimentado con residuos de nopal y nejayote. Además, se evaluó la sostenibilidad energética de este proceso considerando la energía requerida para el mantenimiento y la alimentación del reactor en comparación con la energía obtenida a través del biogás.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio para la generación de biogás a partir de la codigestión del residuo del nopal y el nejayote fue realizado en la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental, en un reactor RAFA (Figura 1) escala piloto con dimensiones de 39 cm de altura y un diámetro interno de 25.5 cm durante 25 días. La temperatura del reactor RAFA fue monitoreada con un termopar y estabilizada con un par de resistencias programadas para detenerse una vez que el termopar indicó 35.0 °C. Los análisis fisicoquímicos realizados fueron: pH, alcalinidad, conductividad, relación alfa (α), sólidos totales y sólidos volátiles. La determinación de sólidos totales y sólidos volátiles fueron realizadas según la norma mexicana NMX-AA-034-SCFI-2015. Para la alcalinidad, se basó en la norma mexicana NMX-AA-036-SCFI-2001. Se realizaron las mediciones de pH y conductividad utilizando un equipo multiparamétrico de la marca Thermo Scientific® modelo Orion STAR A329 portable pH/conductivity meter, siguiendo las normas NMX-AA-008-SCFI-2016 y NMX-AA-093-SCFI-2000, respectivamente. En la Tabla 2 se presenta la distribución de los análisis fisicoquímicos realizados con respecto al día y la muestra pertinente.

Para el cálculo de la relación α del inóculo se tomó como señal analítica el volumen de H_2SO_4 0.02 N usado para llegar a un pH de 5.75 y como señal de fondo el volumen de ácido usado para llegar a un pH de 4.3 (Jenkins *et al.*, 1983).

Para la alimentación (realizada una vez por semana) del reactor se realizó el siguiente procedimiento:

1. Pesar y preparar 750 g de nopal, este pasa por un proceso de trituración y molienda con el fin de facilitar la hidrólisis.
2. Se mezclan 3.5 L de agua caliente para nuevamente triturarlo y filtrar la fibra, la mezcla resultante se homogeniza con 1 L de nejayote y un alcalinizante, en este caso, 5 g de CaO.
3. Una vez filtrada toda la fibra, la mezcla homogénea es alimentada al reactor.

La determinación del porcentaje de metano en el biogás se realizó en un cromatógrafo de gases BUCK Scientific®, con detector de ionización de flama (FID) y conductividad térmica (TCD) y columna empacada con sílica gel en tubo de acero inoxidable de 1 m de longitud y 1/8 " de diámetro. Las condiciones de operación fueron la temperatura del horno de 100 °C a 200 °C, del detector FID 150 °C - 200 °C y del TCD 100 °C - 130 °C.



Figura 1. Reactor RAFA escala piloto usado para la generación de biogás

En la Figura 2 se muestra el sistema conectado al flujo de salida de biogás que permite desplazar por presión un volumen de agua proporcional al volumen de biogás producido, este se puede conocer debido a que el segundo bidón cuenta con una graduación que indica las líneas de nivel. Las muestras de efluente e inóculo son recolectadas en su respectiva línea de salida. Para el gasto de energía se utilizó un medidor de consumo eléctrico (Wattímetro) Steren®.

RESULTADOS

Con respecto a los análisis fisicoquímicos, en la Tabla 3 se muestran los resultados promedio y desviación estándar de la muestra respectiva: en el caso de la relación alfa (solamente realizada para el inóculo) se obtuvo un valor promedio de 0.64.

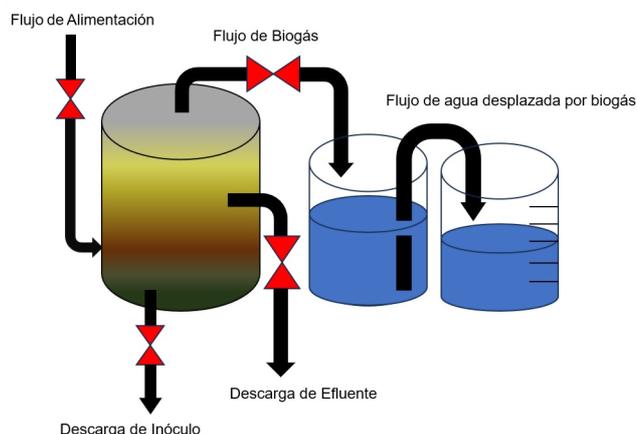


Figura 2. Esquema del reactor RAFA a escala piloto, en este se muestran los ductos por donde fluye biogás, efluente, inóculo, alimentación y agua desplazada por el biogás producido.

El seguimiento del comportamiento de los parámetros: pH, conductividad y alcalinidad se presenta en las Figuras 3. Durante los primeros seis días, se observó una pequeña disparidad entre el pH del inóculo y el del efluente. Sin embargo, a partir del séptimo día, se evidenció un contraste más pronunciado, presumiblemente atribuible al impacto de la alimentación en el sistema y la adaptación del inóculo. Este fenómeno se atribuye a la presencia de un pH básico, que ejerce influencia principalmente en el efluente, como se ilustra en la Figura 3a. En la última alimentación se tuvo un valor de pH de 7.3, se puede apreciar que no hubo alguna afección en la producción de biogás.

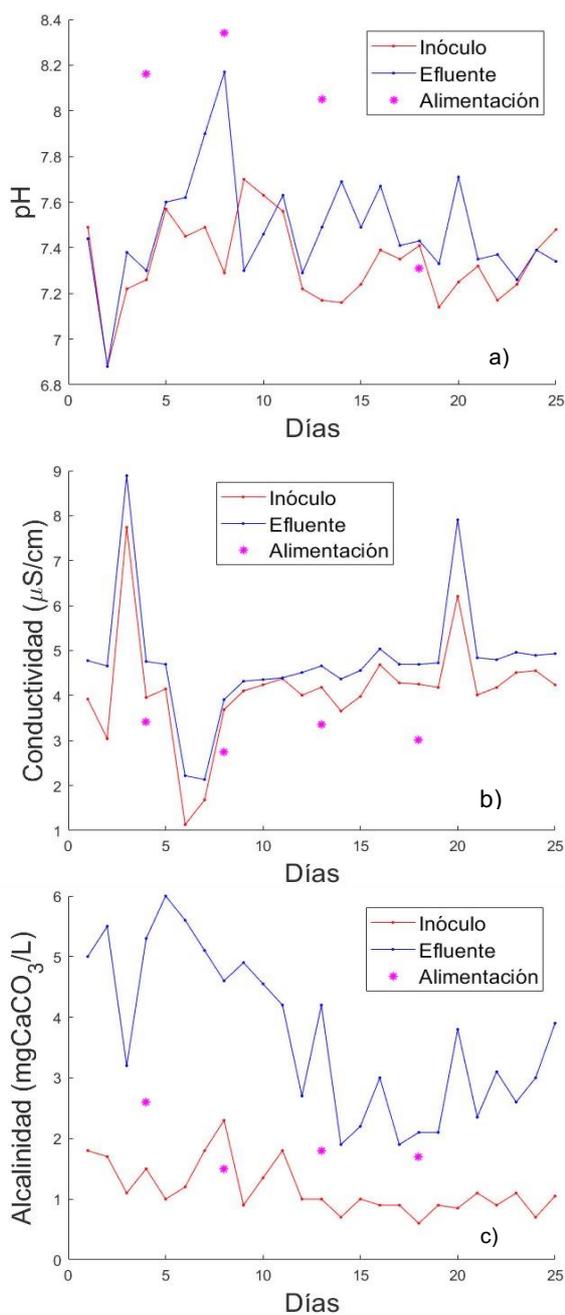


Figura 3. a) Comportamiento de pH, b) Comportamiento de conductividad, c) Comportamiento de alcalinidad.

Con respecto a la conductividad del sistema, en la Figura 3b, se muestra una tendencia similar entre el inóculo y efluente, así mismo, se pueden observar algunos puntos donde ambas conductividades son altas o bajas

con respecto al promedio, esto probablemente se deba a que la muestra no se encontraba suficientemente homogenizada, lo cual

podría considerarse debido a la escala del reactor. La conductividad de la alimentación fue ligeramente menor que la del efluente e inóculo con el fin de no aumentar la concentración de minerales, y, por ende, la conductividad.

La alcalinidad del inóculo tuvo una menor variación en su comportamiento comparada con la del efluente a pesar de mantener la alimentación relativamente constante. Aun así, la alcalinidad del efluente siempre fue superior a la del inóculo (Figura 3c).

El gasto energético semanal incluyó la energía necesaria para mantener la temperatura del reactor y la energía para llevar a cabo los procesos de pretratamiento de la alimentación (molienda, trituración y calentamiento) fue de 16.652 kWh, y la energía neta capaz de producir el biogás obtenido durante una misma semana fue de 0.0581 kWh – 0.06279 kWh, según los poderes caloríficos consultados (Balance Nacional de Energía, 2021; Hosseini & Wahid, 2014).

La producción de biogás por día fue de 1.5 NmL, y mediante cromatografía de gases se encontró que el biogás generado contiene 62% de CH_4 y un 38% de dióxido de carbono (CO_2), y con un rendimiento de 195 NmL/gSV y 300 NmL/gSV, al ser el proceso de adaptación se puede ver como una fuente de energía renovable.

DISCUSIÓN

La eficiencia energética está fuertemente influenciada por la frecuencia de alimentación, que en este caso fue de una vez por semana. Además, el control de las variables analizadas no solamente podría aumentar la producción de biogás, sino también mejorar su contenido de metano (CH_4). Asimismo, una gestión adecuada de los residuos orgánicos, que reduzca su acumulación en vertederos, puede significativamente disminuir las emisiones de gases de efecto invernadero, lo que a su vez contribuye a la mitigación del cambio climático.

Con respecto a otras investigaciones, se puede confirmar que aunque se obtiene un rendimiento de (62%), este fue inferior en comparación con otros estudios en los que se lleva a cabo la obtención de biogás por digestión anaerobia usando por separado nopal, obteniendo un rendimiento de 65% (Quintanar-Orozco et al. 2018; Espinosa-Garza et al., 2018) y nejayote, reportan un rendimiento de 84% (España-Gamboa et al., 2018) y 90% (Ferreira-Rolón et al., 2014). No obstante, las principales

Tabla 1. Trabajos preliminares usando como base nopal o nejayote

Autor	Pretratamiento/Codigestión	Sistema	Sustrato	Porcentaje de CH ₄ (%)
España-Gamboa, E., et al., 2018	-	APCR (Anaerobic-Packed Column Reactor) UASB (Up-flow anaerobic sludge blanket)	Nejayote	84%
Quintanar-Orozco, et al. 2018	Pretratamiento: adición de 0.45 g de Ca(OH) ₂ 1M	Semicontinuo	Nopal (Opuntia heliabravoana Scheinvar)	65%
Espinosa-Garza, et al., 2018	-	Semicontinuo	Nopal (Opuntia ficus-indica)	65%
Ferreira-Rolón, et al., 2014	Pretratamiento: remoción de sólidos (~50%), remoción del calcio (~35%) y pH cercano a 8	UASB	Nejayote	90%

Tabla 2. Análisis realizados a las muestras con respecto al día. (A) Alimentación, (E) Efluente, (I) Inóculo

Día/Análisis	pH	Alcalinidad	Conductividad	Relación α	Sólidos Totales	Sólidos Totales Volátiles
Lunes	E	E	E	I	-	-
	I	I	I			
Martes	E	E	E	I	-	-
	I	I	I			
Miércoles	E	E	E	I	-	-
	I	I	I			
Jueves	A	A	A		A	A
	E	E	E	I	E	E
Viernes	I	I	I		I	I
	E	E	E	I	E	E
					A	A
					I	I

diferencias son los residuos orgánicos usados (en este caso, se hizo codigestión entre nopal y nejayote), así como, el tipo y escala del reactor y los pretratamientos a dichos residuos orgánicos.

Como se mencionó previamente, este estudio cobra relevancia en virtud de su enfoque en la gestión sostenible de residuos orgánicos y su contribución al ámbito de las energías renovables. Además, proporciona un análisis inédito al estudiar de manera conjunta dos sustratos que no habían sido previamente investigados en conjunto. La identificación de la relación entre la eficiencia y estos sustratos podría ser de gran utilidad en la planificación de sistemas futuros, asegurando un rendimiento superior.

Tabla 3. Promedio y desviación estándar de análisis fisicoquímico.

Análisis / Muestra	Alimentación	Efluente	Inóculo
pH	7.96 ± 0.45	7.47 ± 0.24	7.33 ± 0.18
Conductividad (mS/cm)	3.1320 ± 0.31	4.7476 ± 1.32	4.1183 ± 1.20
Alcalinidad (mgCaCO ₃ /L)	1.9 ± 0.48	3.712 ± 1.31	1.166 ± 0.42
Sólidos Totales (mg/L)	11 700 ± 0.00	3800 ± 0.00	29 525 ± 0.00
Sólidos Totales Volátiles (mg/L)	8600 ± 0.00	1600 ± 0.00	15 975 ± 0.00

CONCLUSIONES

La digestión anaerobia aplicada al nopal y el nejayote demuestra ser un proceso efectivo en la producción de biogás con un contenido significativo de metano (62% CH₄), especialmente cuando se emplean los pretratamientos de molienda, químico y el calentamiento en la alimentación. Siendo este el primer estudio de su tipo en cuanto a la combinación de nopal (*Opuntia ficus-indica*) y nejayote en la digestión anaerobia, los resultados de este trabajo ofrecen una valiosa opción para la implementación de sistemas que busquen maximizar el rendimiento en la producción de biogás.

AGRADECIMIENTO

El primer autor agradece al Programa Interinstitucional para el Fortalecimiento de la Investigación y el Posgrado del Pacífico (XXVIII Programa Delfín) por permitir llevar a cabo el siguiente trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Balance Nacional de Energía. (2021). Subsecretaría de Planeación y Transición Energética Dirección General de Planeación e Información Energéticas.
- Cota-Sánchez, J. H. (2016). Nutritional Composition of Fruit Cultivars || Nutritional Composition of the Prickly Pear (*Opuntia ficus-indica*). *Fruit.*, 691–712. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-408117-8.00028-3>
- Díaz-Montes, E. and Castro-Muñoz, R. (2021). Analyzing the phenolic enriched fractions from Nixtamalization wastewater (Nejayote) fractionated in a three-step membrane process. *Current Research in Food Science*, 5, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.crf.2021.11.012>
- España-Gamboa, E., Domínguez-Maldonado, J. A., Tapia-Tussell, R., Chale-Canul, J. S. and Alzate-Gaviria, L. (2018). Corn industrial wastewater (nejayote): a promising substrate in Mexico for methane production in a coupled system (APCR-UASB). *Environmental Science and Pollution Research*, 25(1), 712-722. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0479-z>
- Espinosa Garza, G., Hernández, I. L. and Antonyan, N. (2018). Production of nopal-based biogas. In *Proceedings of the 2018 IISE Annual Conference*.
- Ferreira-Rolón, A., Ramírez-Romero, G. and Ramírez-Vives, F. (2014). Aumento de la actividad metanogénica en lodos granulares, precipitando calcio en el nejayote mediante el burbujeo de CO₂. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 13(2), 517-525.
- Hosseini, S. E. and Wahid, M. A. (2014). Development of biogas combustion in combined heat and power generation. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 40, 868–875. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2014.07.204>
- Jenkins, S. R., Morgan, J. M. and Sawyer, C. L. (1983). Measuring Anaerobic Sludge Digestion and Growth by a Simple Alkalimetric Titration. *Water Pollution Control Federation*, 55(5), 448–453. <http://www.jstor.org/stable/25041903>
- NMX-AA-034-SCFI. (2015). MEDICIÓN DE SÓLIDOS Y SALES DISUELTAS EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS.

NMX-AA-036-SCFI. (2001). DETERMINACIÓN DE ACIDEZ Y ALCALINIDAD EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS. NMX-AA-036-SCFI-2001.

NMX-AA-008-SCFI. (2016). MEDICIÓN DEL pH EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS.

NMX-AA-093-SCFI. (2000). DETERMINACIÓN DE LA CONDUCTIVIDAD ELECTROLÍTICA.

Parra-Orobio, B., Torres-Lozada, P., Marmolejo-Rebellón, L. F., Cárdenas-Cleves, L. M., Vásquez-Franco, C., Torres-López, W. A., and Ordóñez-Andrade, J. A.. (2014). INFLUENCIA DEL pH SOBRE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA DE BIORRESIDUOS DE ORIGEN MUNICIPAL. *Actualidad & Divulgación Científica*, 17(2),553-562.

<http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v17n2/v17n2a27.pdf>

Quintanar-Orozco, E. T., Vázquez-Rodríguez, G. A. and Beltrán-Hernández, R. I. (2018). Enhancement of the biogas and biofertilizer production from *Opuntia heliabravoana* Scheinvar. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 28403–28412. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2845-x>

Yin, D. M., Westerholm, M., Qiao, W., Bi, S. J., Wandera, S. M., Fan, R. and Dong, R. J. (2018). An explanation of the methanogenic pathway for methane production in anaerobic digestion of nitrogen-rich materials under mesophilic and thermophilic conditions. *Bioresource Technology*, 264, 42-50. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.05.062>



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA