

Revista de Ciencia y Tecnología

INGENIERÍA, TECNOLOGÍA E INFORMÁTICA, SALUD, BIOLOGÍA Y GENÉTICA, EDUCACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA

AÑO 21 / Nº 32 / 2019

ÍNDICE

- 5 Evolución del índice de innovación en tecnología asistiva en Brasil / Sara Raquel Martins da Silva, Josieli Aparecida Marques Boiani, Fausto Orsi Medola, Galdenoro Botura Júnior.
- 11 Análisis Físico-Químico de Biodiesel obtenido por mezcla de aceite de castor y aceite de de freír / Daniela H. P. Guimarães, Lucas R. Aguirre, Bruna C. M. Gonçalves, Maria T. M. G. Rosa, Wallyson R. Santos.
- 16 Análisis del consumo de agua y energía en el riego por surcos / Oswal Madrigal Millian, Oscar Brown Manrique, Daniubis Luis Pelier, Yurisbel Gallardo Ballat, Lázaro Castellanos.
- 22 Optimización de las condiciones de cultivo para la producción de una poligalacturonasa microbiana / Silvana A. Maidana, Alicia A. Mieres, Emilce R. Zubreski, María A. Martos.
- 28 Técnica de extracción, transformación y carga de datos de estaciones meteorológicas / Héctor Ramón López.
- 33 Perfil lipídico de tres especies de pescados de agua dulce: Boga (*Leporinus obtu-sidens*), Dorado (*Salminus brasiliensis*) y Surubí (*Pseudoplatysto macoruscans*) / María C. Ciappini, María B. Gatti, Priscilla N. Chain, María S. Cabreriso.
- 39 La rastreabilidad de la medición del paciente en el hospital con la tecnología RFID / Victor Nassar, Milton Vieira.
- 48 Encapsulación de antioxidantes del concentrado de Yerba Mate: Influencia de las condiciones de secado / José O. Hermosilla Vera, Miguel E. Schmalko.
- 56 Extracción de pectina a partir de albedo de limón con una poligalacturonasa de *wickerha-momyces anomalus* / Silvana A. Maidana, Claudia L. Danovich, Emilce R. Zubreski, María A. Martos.
- 64 Optimización de la hidrólisis enzimática de la cascarilla de arroz / Ana María Arismendy, Andrés Felipe Villa Retrepo, Wilman Alcaraz, Ester R. Chamorro, María C. Area.
- 71 Modelado matemático del secado de fideos libres de gluten, influencia de la velocidad del aire / Paola S. Chigal, Laura B. Milde, Luis A. Brumovsky.
- 76 Análisis ambiental y georreferenciamiento del rio Mumbuca en Monte Carmelo – MG, Brasil / Maria L. Bolanos Rojas, Raquel N. Fernandes Silva, Edmar Isaías de Melo, Jugurta Vieira Neto, Gabriel Da Costa Resende, Lucas França Máximo.
- 82 Evaluación de la calidad del agua del embalse Mbói Caé / J. Weseluk, F. Vergara, V. Berestovoy.
- 87 Descripción morfológica de amebas testadas del género *Arcella sp.*, a través del uso de técnicas múltiples / Karen Bracale, Roschman-González, Héctor Osorio-Vega.
- 92 Efecto de pH, temperatura y tiempo de incubación sobre el crecimiento fúngico y la actividad la casa en *Trametes villosa* BAFC 2755 / Mónica L. Barchuk, María I. Fonseca, Ernesto M. Giorgio, Pedro D. Zapata.
- 99 Instrucciones a los autores.
- 102 Instructions to authors.
- 105 Instruções aos autores.
- 108 Confirmación de Autoría y Derechos de Publicación. / Confirmation of Authorship and Publication Regulations. / Confirmação de Autoria e Direitos de Publicação.

• **SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO. FCEQyN-UNaM**

Secretario: Dr. Horacio D. Kuna.

• **REVISTA DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA**

COMITÉ EDITORIAL

Editor principal: Dra. Alicia E. Ares. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. UNaM. Misiones. Argentina.

Editor adjunto: Dr. Miguel E. Schmalko. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. UNaM. Misiones. Argentina.

CONSEJO DE EDICIÓN

Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. UNaM. Argentina

Dr. Dardo A. Martí.

Dra. Laura A. Ramallo.

Dra. Marina Quiroga.

Dra. Laura L. Villalba.

Dr. Pedro D. Zapata.

Dr. Alberto S. Fenocchio.

Dra. Ana María Zoppi.

Dr. Carlos Galian (Invitado)

Dra. Silvina Ramos (Invitada)

Dr. Horacio Kuna (Invitado)

Dra. María de los Rosarios Mattivi (Invitada)

Mgter. Griselda Patricia Scipioni (Invitada)

Dra. Martha Von Specht (Invitada)

Dra. María Isabel Fonseca (Invitada)

Dra. María Laura Vera (Invitada)

Ing. Hugo Orlando Reinert (Invitado)

Ing. Agr. Diego Chifarelli (Invitado)

Instituciones de la Argentina

Mgter. Nilda Josefa Corral. Facultad de Humanidades. UNNE. Resistencia. Chaco.

Dra. Silvia Di Genaro. Universidad Nacional de San Luis. San Luis. Argentina.

Dr. Roque Hours. Universidad Nacional de La Plata. Argentina.

Dr. Rodolfo Mascheroni. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos. La Plata. Argentina.

Dr. Jorge E. Monzón. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. UNNE. Corrientes. Argentina.

Dra. Silvia Resnik. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Argentina.

Dr. José G. Seijo. Facultad de Ciencias Exactas Naturales y Agrimensura. UNNE, Corrientes. Argentina.

Revista de Ciencia y Tecnología on line: www.fceqyn.unam.edu.ar/recyt. Hecho el depósito de la Ley 11723. Impreso en Argentina. ISSN de la revista impresa: 0329-8922. ISSN de la revista electrónica: 1851-7587.

Esta Revista es un servicio de la SECIP. Está prohibida su venta a terceros como también la reproducción total o parcial con fines comerciales. Los trabajos presentados han sido aceptados para su publicación por el Consejo de Dirección y el Consejo de Edición. La Revista no se hace responsable de las opiniones contenidas en los artículos, siendo de responsabilidad exclusiva de los autores de los mismos. La edición de la Revista cuenta con el apoyo económico de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales y de la Fundación Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales.

Toda correspondencia relacionada a la Revista debe ser dirigida a: Revista de Ciencia y Tecnología. Félix de Azara 1552, 3300, Posadas, Misiones, Rep. Argentina. Teléfono: 54-376-4422186, Fax: 54-376-4425414, E-mail: recyt@fceqyn.unam.edu.ar. Revista de periodicidad semestral.

Instituciones del Exterior

Dra. María Sol Brassesco Annichini. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP, Brasil.

Dr. Rafael A. Auras. Michigan State University, Michigan, Estados Unidos.

Dra. Marusia Stefanova. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV).

Dr. Andre Luiz Ferraz. Departamento Biotecnologia, Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Brasil.

Mgter. Mirtha Lucía Abraham Nazif. Univ. Academia de Humanismo Cristiano. Providencia, Santiago de Chile.

Dra. Pilar López Ruiz. Universidad de Alcalá de Henares. Madrid. España.

Dr. José Ignacio Paláez Sánchez. Universidad de Málaga. España.

EQUIPO EDITORIAL

Armado de interior y tapa: D.G. Javier B. Giménez.

Revisión de texto: Lic. Julia E. Renaut.

Revisión de texto en inglés: Responsable: Lic. María C. Benassi; Docentes: Prof. María E. Sobrero, Lic. Silvia Flores, Lic. Martha S. Godoy, Prof. María L. Stefañuk, Prof. María F. Picasso.

Revisión de texto en portugués: Prof. Cristina S. Pastori.

Colaboradores técnicos: Brian M. Doubña, Lic. Nancy B. Ganz, Marina Rojas, ASC. Víctor R. Narvaez.

COMITÉ DE REVISIÓN EXTERNO INGENIERÍA, TECNOLOGÍA E INFORMÁTICA, SALUD, BIOLOGÍA Y GENÉTICA, EDUCACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA

Dr. Diego Ruiz. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad Nacional de La Plata. Argentina.

Dr. Juan Carlos Contreras-Esquivel. Empresa Coyote Foods. Argentina.

Dra. Mariela Ortiz. Instituto de Investigaciones Físicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA-CONICET). Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata. Argentina.

Dra. Alicia Mon. Universidad Nacional de La Matanza. Argentina.

Dra. Nora Reyes. Universidad Nacional de San Luis. Argentina.

Dra. Laura Sara Malec. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Argentina.

Dr. Francisco Vazquez. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. Universidad Nacional del Nordeste. Argentina.

Dra. Susana Zorrilla. Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC-CONICET). Facultad de Ingeniería Química. Universidad Nacional del Litoral. Argentina.

Dr. Ricardo Manzo. Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC-CONICET). Facultad de Ingeniería Química. Universidad Nacional del Litoral. Argentina.

Dr. Gerardo Pellerano. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. Universidad Nacional del Nordeste. Argentina.

Dra. Cristina Salgado. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional del Nordeste. Argentina.

Dr. Hipólito Pajot. Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos (PROIMI-CONICET). Argentina.

Dr. Marcos Maiocchi. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. Universidad Nacional del Nordeste. Argentina.

Lic. Javier Alejandro Antivero. Universidad de Buenos Aires. Argentina.

Dr. Jorge Víctor Pilar. Facultad de Ciencias Económicas. Universidad Nacional del Nordeste. Argentina.

Dr. Gonzalo Martín Aiassa Martínez. Facultad Regional Córdoba. Universidad Tecnológica Nacional. Argentina.

La Revista de Ciencia y Tecnología (RECyT) publica artículos originales que representan una contribución para el desarrollo científico-tecnológico. Incluye trabajos de investigación básica y aplicada y de desarrollo tecnológico, revisiones bibliográficas de alto impacto, notas técnicas y, eventualmente, estudios de casos que por su relevancia ameriten publicarse.

**COMITÉ DE REVISIÓN INTERNO INGENIERÍA, TECNOLOGÍA E INFORMÁTICA, SALUD,
BIOLOGÍA Y GENÉTICA, EDUCACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA**

Mgter. Griselda Patricia Scipioni. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Argentina.

Dra. Lorena Castrillo. Instituto de Biotecnología Misiones (INBIOMIS). Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Argentina.

Dr. Horacio Mendoza. Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Misiones. Argentina.

Dra. Graciela B. Gavazzo. Instituto de Materiales de Misiones (IMAM-CONICET). Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Argentina.

Dra. Angeles Kolman. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Argentina.

Dra. Romina Coniglio. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Argentina.

Dr. José Luis Herrera. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Argentina.

Mgter. Cecilia Puchalski. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Argentina.

Dr. Tomas Rodríguez. Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Misiones. Argentina.

Dr. Hernan Traid. Instituto de Materiales de Misiones (IMAM-CONICET). Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Argentina.

Mgter. Ing. Jorge Senn. Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Misiones. Argentina.

Dr. Juan Carlos Michalus. Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Misiones. Argentina.

RECyT

Año 21 / N° 32 / 2019 / 5–10

Evolución del índice de innovación en tecnología asistiva en Brasil

Evolution of the index of innovation in assistive technology in Brazil

Evolução do índice de inovação em tecnologia assistiva no Brasil

Sara Raquel Martins da Silva^{1,*}, Josieli Aparecida Marques Boiani¹,
Fausto Orsi Medola¹, Galdenoro Botura Júnior²

1- Universidade Estadual Paulista - Campus Bauru - Av. Eng. Luiz E. C. Coube, 14-01 17033-360 - Bauru,
São Paulo - Brasil; 2- Av. Três de Março, 511 - Aparecidinha, Sorocaba - SP, 18087-180, Brasil

* E-mail: s.martinsto@gmail.com

Resumen

Los bancos de patentes mundiales han servido como indicadores de los avances de las tecnologías desde los siglos pasados, propiciando identificar las más recientes innovaciones ocurridas y la evolución de los perfeccionamientos que vinieron al mercado, siendo que una de las consecuencias de la actual evolución tecnológica retratada por ellos está reflejada en el alto número de personas que conviven con problemas de movilidad. El presente artículo analiza la evolución del índice de innovación en tecnología asistiva en Brasil a partir del análisis del número de depósitos de patentes para silla de ruedas, bastones, muletas y andadores investigados en el banco de patentes del Instituto Nacional de la Propiedad Industrial - INPI, desde 1976, identificándose un total de 240 depósitos de esos dispositivos. Un análisis de la variación temporal de estos depósitos, las razones de repentinos crecimientos en determinados períodos, así como las principales novedades presentadas se encuentran relacionadas.

Palabras clave: Innovación; Propiedad Industrial; Movilidad; Tecnología Asistiva; Diseño.

Abstract

World patent banks have served as indicators of the advances of technologies since the past centuries, allowing to identify the latest innovations that have occurred and the evolution of the improvements that have come to the market, being that one of the consequences of the current technological evolution portrayed by them is reflected in the high number of people living with mobility problems. The present article analyzes the evolution of the index of innovation in assistive technology in Brazil, based on the analysis of the number of deposits of patents for wheelchairs, walking sticks, crutches and walkers researched in the patent bank of the National Institute of Industrial Property - INPI, since 1976, identifying a total of 240 deposits of these devices. An analysis of the temporal variation of these deposits, the reasons for sudden growth in certain periods, as well as the main novelties presented are reported and discussed.

Keywords: Innovation; Industrial Property; Mobility; Assistive Technology; Design.

Resumo

Os bancos de patentes mundiais têm servido como indicadores dos avanços das tecnologias desde os séculos passados, propiciando identificar as mais recentes inovações ocorridas e as evoluções dos aperfeiçoamentos que vieram para o mercado, sendo que uma das consequências da atual evolução tecnológica retratada por eles está refletida no alto número de pessoas que convivem com problemas de mobilidade. O presente artigo analisa a evolução do índice de inovação em tecnologia assistiva no Brasil a partir da análise do número de depósitos de patentes para cadeira de rodas, bengalas, muletas e andadores pesquisadas no banco de patentes do Instituto Nacional da Propriedade Industrial - INPI, desde 1976, identificando-se um total de 240 depósitos desses dispositivos. Uma análise da variação temporal desses depósitos, as razões para súbitos crescimentos em determinados períodos, bem como as principais novidades apresentadas se encontram relacionadas e discutidas.

Palavras-chave: Inovação; Propriedade Industrial; Mobilidade; Tecnologia Assistiva; Design.

Introdução

Durante o desempenho das atividades de vida diária (AVDs) a mobilidade é um dos fatores de maior influência na qualidade de vida de qualquer indivíduo. No entanto, circunstâncias diversas podem comprometer a capacidade de locomoção independente e satisfatória das pessoas, como doenças progressivas e degenerativas, lesões da medula espinhal, acidentes, amputações, envelhecimento, dentre outros.

Segundo o IBGE (2010)^{1,2}, 23,9% da população brasileira apresenta algum tipo de deficiência, estando em primeiro lugar com 18,6% as deficiências visuais, e logo em seguida, representando 7% dos casos, as deficiências motoras. Ou seja, algo que atinge mais de 10 milhões de pessoas no Brasil. O processo de envelhecimento, na grande maioria dos casos, vem acompanhado de doenças crônicas e degenerativas reduzindo a autonomia dos idosos, sendo necessário o auxílio de cuidadores ou recursos para a realização das tarefas diárias³. Esse mesmo censo indica que a porcentagem de idosos, candidatos naturais a vir a ter algum tipo de deficiência, atingiu 7,4% da população, com prognóstico de crescimento nos próximos anos.

O auxílio para que essas pessoas ganhem alguma autonomia de movimentação chega, prioritariamente, através da Tecnologia Assistiva (TA). Classificada pelo Comitê de Ajudas Técnicas da área da Pessoa com Deficiência (CAT)⁴, formado por representantes de órgãos do Governo Federal, especialistas e representantes da sociedade civil, como uma disciplina de domínio interdisciplinar que tem por objetivo restaurar a função humana e diz respeito à pesquisa, fabricação, recursos ou estratégias que fortaleçam as habilidades funcionais de pessoas com capacidades específicas⁵. A importância da Tecnologia Assistiva, e de seu desenvolvimento, para o exercício de mobilidade de pessoas torna-se cada vez mais fundamental e prioritária, e os dados apresentados pelo IBGE mostram a grande demanda existente para o desenvolvimento de novos produtos voltados para esse público.

Dentre os dispositivos de tecnologia assistiva que auxiliam a mobilidade e aumentam a qualidade de vida de seus usuários estão presentes tanto a cadeira de rodas, indicadas às pessoas que necessitam de auxílio total para a mobilidade, quanto os andadores, muletas e bengalas, que servem como dispositivos complementares à marcha. Tais tecnologias possibilitam autonomia e independência na realização de atividades diárias aos indivíduos com limitações, além de propiciar uma maior integração e participação destes na sociedade.

Os desenvolvimentos tecnológicos que têm revolucionado a produção desses dispositivos necessitam que, antes de serem disponibilizados no mercado, seus criadores tenham suas invenções protegidas. O mecanismo apropriado para isso é o registro de patentes, permitindo que a proteção dos avanços e novidades apresentadas sejam

resguardadas por um período de tempo. Porém, o mesmo dispositivo que possibilita ao inventor ter exclusividade na exploração comercial de seu invento, como contrapartida exige que seu depositante disponibilize essa contribuição ao público interessado, permitindo que tenham conhecimento da novidade apresentada, sendo esse o importante fator do instrumento que viabilizará que a tecnologia evolua, norteando as próximas inovações.

A Patente como instrumento de proteção intelectual data de tempos antigos. Já no século XIX o acelerado desenvolvimento dos países e a consequente ampliação do comércio internacional, fez com que as indústrias mais desenvolvidas estabelecessem mecanismos capazes de impedir a cópia dos produtos expostos em feiras industriais⁶. Segundo Pavanelli⁷ no Brasil em 1809, na época de Dom João VI, havia também essa preocupação e ocorria a proteção às invenções como uma ferramenta que visava a prosperidade do Estado, o que acontecia em áreas ligadas à agricultura, comércio e melhorias nas navegações.

Neste sentido, a propriedade industrial no Brasil, regulamentada pela Lei nº 9.279/96, abrange um conjunto de direitos e deveres relacionados a bens intelectuais e industriais, assegurando ao proprietário, não necessariamente inventor, a exclusividade de fabricação, importação, uso e venda. Compreende ainda a proteção de objetos de Patente de Invenção (PI), Modelo de Utilidade (MU), marca, desenho e segredo industrial e repressão à concorrência desleal. Para a concessão de uma patente, é realizado um pedido de registro de patente no Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI), no qual, como Autarquia Federal, responsabiliza-se pelo sistema oficial de patentes⁸. A partir da data de depósito, a vigência das patentes para PI é de 20 anos e para MU, 15 anos⁶. Segundo Malavolta (2008)⁹ para que uma Patente de Invenção seja considerada, a atividade deve ser uma novidade e ter aplicabilidade industrial; quando houver uma modificação de um objeto de uso prático já existente e que resulte em melhoria funcional, considera-se então um Modelo de Utilidade.

O registro de patentes é considerado um indicador relevante que avalia a capacidade do país em transformar a pesquisa aplicada em inovações tecnológicas. Portanto, o estudo de registro de patentes relacionados ao desenvolvimento de produtos de tecnologia assistiva torna-se indispensável no âmbito da pesquisa em inovações, impulsionando e incentivando novas prospecções na produção de produtos de TA, além de identificar o índice de inovação e as evoluções tecnológicas apresentadas por esses equipamentos voltados para a tecnologia assistiva.

Este trabalho apresenta o levantamento das patentes de cadeira de rodas, bengalas, muletas e andadores depositados no INPI ao longo dos últimos 40 anos para identificar a evolução desses artefatos no Brasil, retratando a evolução tecnológica e índice de inovação que a tecnologia assistiva recebeu ao longo do tempo. Apresenta, também, as principais contribuições identificadas e novidades exibidas,

permitindo-se ter a visão do estado em que se encontra a tecnologia assistiva no país e mostra que as mudanças ocorridas, normas legais influenciaram nos índices e, conseqüentemente, no avanço tecnológico ocorrido.

Material e Método

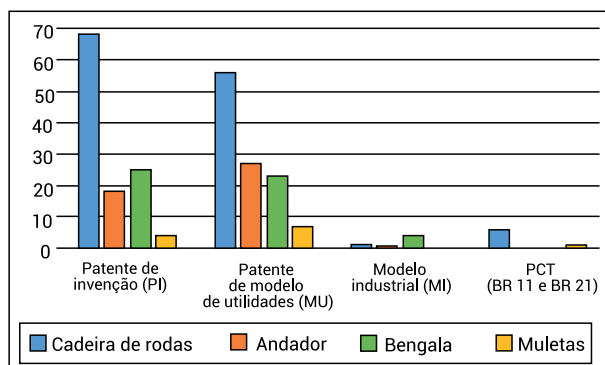
A pesquisa foi realizada através de busca exploratória descritiva na plataforma *online* do Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), no período de 1976 a agosto de 2016, na categoria de consulta de -Base Patente-, -contendo todas as palavras-, com os seguintes descritores: bengala, muletas, andador e cadeira de rodas no título, a partir do ano de 1976 (quando foram encontrados os primeiros registros de produtos de TA) até o período de julho de 2016. Os documentos foram classificados obedecendo as tradicionais numerações de patentes do INPI.

A partir de 2012, com a mudança de nomenclatura ocorrida, utilizou-se as siglas: BR10 - Patente de Invenção; BR20 - Modelo de Utilidade; BR11 e BR21 referem-se a PCT (pedidos oriundos do Patent Cooperation Treaty). Não foram considerados os registros de patentes BR13, relacionados aos Certificados de Adição.

Resultados e Discussão

Por meio da busca de palavras contendo “cadeira de rodas” foram localizados, a partir de 1976, um total de 131 protocolos no INPI, considerando tanto os Pedidos de Invenção quanto os Modelos de Utilidades; com o descritor “andador” foram localizados 46 resultados; com a palavra “bengala” foram obtidos 51 protocolos, e com o descritor “muletas” foram encontrados 12 documentos (Figura 1).

Figura 1: Relação de documentos encontrados



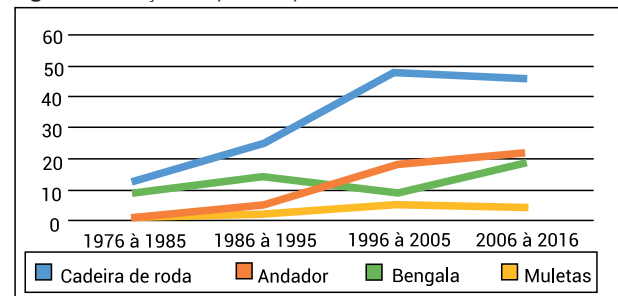
Fonte: Elaborado pelos autores.

A partir de 1986 até 1995, houve um aumento significativo de documentos de depósitos de patentes, o que pode ser identificado pela mudança da inclinação da reta quando se interliga o período mencionado com o anterior (1976-1985), ou seja, neste intervalo ocorreu o aumento da derivada encontrada para todas as variáveis medidas

(Figura 2). Como Póvoa (2008)¹⁰ apontou, durante o decorrer dos anos de 1990, aconteceram mudanças em relação às normas de propriedade industrial, sugerindo que essas mudanças impactaram o patenteamento de produtos. Não se concedia, anteriormente, proteção para invenções em áreas específicas de grande importância, como a de produtos químicos e farmácia, por exemplo. Porém, a Lei nº 9.279, que entrou em vigor em 15 de maio de 1997, adaptou a Lei nº 5.772, de 21 de dezembro de 1971, vigente até então, ao termo que estabelece que os países subscritores não devem excluir nenhuma área tecnológica para a concessão de patentes. Sendo assim, a permissão de patentes sem discriminação de áreas passou a ser obedecida no Brasil. Outra mudança apontada pelo autor está relacionada ao aumento do número de pesquisadores dentro das universidades que, em virtude da preocupação com os resultados de algumas de suas pesquisas, passaram a dar valor à buscas e obtenção de patentes.

Na análise realizada identificou-se que durante o período compreendido de 1976 a 1985 encontraram-se 12 registros relacionados a cadeira de rodas, tratando-se dos dispositivos de TA com maior número de patentes dentre todos os considerados durante esses anos, 1 registro relacionado a andador, 9 registros à bengala, ficando esta em segundo lugar logo após a cadeira de rodas, e somente 1 registro para muletas neste período de tempo (Figura 2).

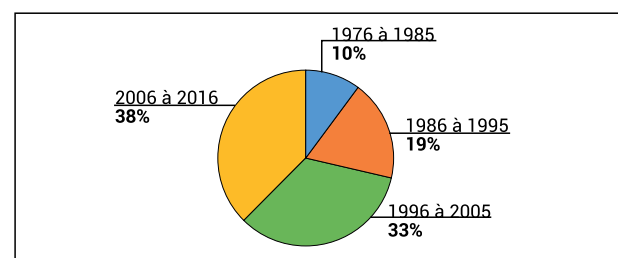
Figura 2: Evolução temporal de patentes



Fonte: Elaborado pelos autores.

A Figura 3 mostra que o período concentrado de 2006 a 2016 foi no qual se registrou o maior número de depósito de documentos de patentes de dispositivos de tecnologia assistiva auxiliares na mobilidade (Figura 4) em valores absolutos. Porém que houve uma diminuição na taxa da variação de depósitos para as muletas e cadeiras de rodas.

Figura 3: Quantidade de depósito por período



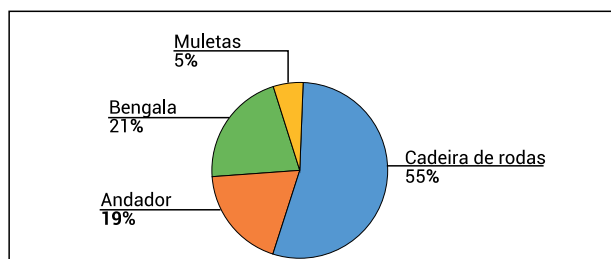
Fonte: Elaborado pelos autores.

Ressalta-se que esse aumento pode estar relacionado com a proposta da Secretaria de Ciência e Tecnologia para Inclusão Social - SECIS, que a partir do ano de 2005, investiu no desenvolvimento de ações em Tecnologia Assistiva¹¹. As primeiras iniciativas nesse sentido foram realizadas por meio da Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP)¹² que compreendeu a importância de impulsionar projetos específicos para pessoas com deficiência (MINISTÉRIO..., 2015)¹³. O programa de Inovação em Tecnologia Assistiva, apoiado pelo FINEP, com o objetivo de subsidiar o desenvolvimento tecnológico e a inovação de produtos, processos e serviços direcionados para indivíduos com deficiência, mobilidade reduzida e idosos, tornou-se uma das ações do Plano Nacional dos Direitos da Pessoa com Deficiência - Viver sem Limites, vigente em 2011 (FINEP, 2015)¹². Porém, identifica-se que o investimento e incentivos oferecidos não teve grande efetividade.

O realizado corrobora a afirmação de Rocha, onde encontra-se citado: “O país encontra-se em destaque pelo desenvolvimento científico, caracterizado pelo satisfatório número de publicações científicas”¹³. No entanto, ainda tem muito a se esforçar para que a atividade inovativa, traduzida pelo número de depósito de patentes seja também um indicador de desenvolvimento em produção tecnológica.

A Figura 4 apresenta que os depósitos referentes a cadeira de rodas correspondem a mais de 55%, ou seja, mais do que a soma de todos os outros juntos, ficando a muleta, com somente 5%, com a menor solicitação dentre eles.

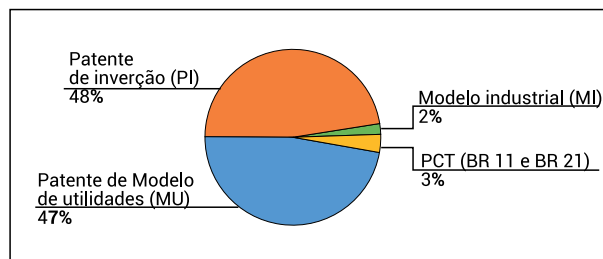
Figura 4: Depósito entre 1976 e 2016



Fonte: Elaborado pelos autores.

A análise dos documentos depositados mostra que a maioria dos avanços e pedidos de proteção referem-se a dispositivos que visam garantir aos seus usuários maior segurança, autonomia e condições posturais adequadas em produções totalmente inovadoras, melhorando os aspectos funcionais dos dispositivos. Em uma análise por categoria, pode-se verificar que o maior número está relacionado à Patente de Invenção, seguido de Patente de Modelo de utilidade, Modelo Industrial e por último, PCT (Figura 5).

Figura 5: Depósito por categoria



Fonte: Elaborado pelos autores.

A análise dos depósitos efetuados, de modo a se conhecer as principais novidades e avanços conseguidos, identificou que, dentre as principais inovações em relação às cadeiras de rodas, destacam-se as que estão contidas no depósito intitulado “Cadeira de rodas de segurança” - BR 1020140255320, que tem como novidade uma quinta roda traseira com a intenção de reduzir os riscos de quedas para trás, tanto em manobras quanto em terrenos irregulares, permitindo ainda uma maior estabilidade e conservação de energia do usuário; o Modelo de Utilidade denominado “Braço extensor com amortecedor para eixo dianteiro de cadeira de rodas” - MU 8903080-0 - apresenta como novidade a proteção do posicionamento das rodas dianteiras da cadeira de rodas à frente do apoio de pés do usuário, que desloca seu ponto de equilíbrio e evita tombamentos, além de um sistema de amortecimento por meio de molas. Desta forma o dispositivo possibilita a mobilidade de usuários de cadeira de rodas em terrenos de difícil acesso, proporcionando a independência e favorecendo a inserção social; no registro PI 0502550-8, “Disposição construtiva introduzida em mecanismo de propulsão invertida em cadeira de rodas auxiliando na obtenção de uma melhor adequação postural do cadeirante”, propõe-se um mecanismo de propulsão invertida, no qual o usuário aplica uma força de tensão no sentido contrário ao deslocamento, fazendo uso de sua estrutura musculoesquelética posterior e mantendo o equilíbrio pélvico para manutenção postural durante as manobras com a cadeira de rodas, no Modelo de Utilidade BR 202014002916-3 U2 – “Disposição Construtiva em cadeira de banho para indivíduos com deficiências físicas motoras e/ou com falta de estabilidade ou sustentação tronco corporal”, está apresentado uma cadeira de rodas para banho com travas nas rodas dianteiras, o que inibe a incidência de tombos frontais dos usuários, além de ajustes que promovem a biomecânica postural adequada dos cuidadores em suas atividades diárias.

Com relação aos andadores as principais inovações referem-se a dispositivos com mais praticidade de uso e voltados para o conforto do usuário e levam em conta aspectos ergonômicos, como o registro PI 0905573-8 - “Dispositivo de alerta para muletas axilares”, com um sistema inédito de amortecedor de carga na sola do dispositivo e o registro BR 10 2012 015797 7- “Bengala, muletas e andadores em alumínio anodizado”, que permite a coloração do dispositivo conforme preferência do usuário.

Conclusão

Um levantamento realizado junto ao banco de dados de Patentes do Instituto Nacional de Propriedade Industrial - INPI - identificou um total de 240 depósitos de dispositivos de tecnologia assistiva no período de 1976 à 2016, com um aumento significativo a partir de 1986, quando houve mudanças institucionais na Lei nº 9.279, além do crescimento dos números absolutos de depósitos no período concentrado entre 2006 e 2016, graças aos incentivos de desenvolvimento de ações de Tecnologia Assistiva financiados pela Secretaria da Ciência e Tecnologia para Inclusão Social.

Durante o levantamento identificou-se que, dos depósitos do período, 55% dos dispositivos corresponderam a cadeira de rodas, 21% à bengalas, 19% à andadores e 5% dos documentos depositados referiram-se à muletas e que as novidades apresentadas tiveram por objetivo, na maioria dos casos, proporcionar aos usuários segurança e autonomia, conforto e praticidade no uso, como a adição de uma quinta roda traseira no caso das cadeiras de rodas, com bengalas e andadores confeccionados em material que permite alterações segundo a preferência do usuário, além de sistema de amortecimento para muletas axilares.

Embora notado o crescimento do número de patentes de tecnologia assistiva nos últimos anos, dentre os dispositivos pesquisados, ainda é relativamente pequena a quantidade de patentes no país, o que pode evidenciar que a inovação para esses artefatos não está sendo disseminada ou dispondo grande relevância no Brasil.”

A análise de depósitos de patentes e a produção inovativa relacionadas à TA é ampla e tem muito a ser explorada, sendo que estudos desse caráter podem fornecer informações relevantes para indivíduos com necessidades específicas que podem ser reabilitados em suas atividades diárias a partir do uso desses dispositivos, bem como, para profissionais que as prescrevem.

Agradecimentos

Esse estudo contou com o apoio das seguintes agências de fomento, CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e CNPQ Processo 458740/2013-6 e 133116/2016-6 (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico).

Bibliografia

1. Instituto brasileiro de geografia e estatística - IBGE (2010). *Cartilha do Censo 2010 - Pessoas com Deficiência* / Luiza Maria Borges Oliveira / Secretaria de Direitos Humanos da Presidência da República (SDH/PR) / Secretaria Nacional de Promoção dos Direitos da Pessoa com De-

ficiência (SNPD) / Coordenação-Geral do Sistema de Informações sobre a Pessoa com Deficiência; Brasília: SDH-PR/SNPD, 2010. (Verificado em 13 de Julho de 2016)

2. Instituto brasileiro de geografia e estatística - IBGE. *Sinopse dos resultados do censo 2010*. Disponível em <<http://censo2010.ibge.gov.br/resultados>>. (Verificado em 13 de Julho de 2016).
3. Brito, FC; Litvoc, CJ. *Conceitos básicos*. In F.C. Brito e C. Litvoc (Ed.), *Envelhecimento - prevenção e promoção de saúde*. São Paulo: Atheneu, 2004.
4. Secretaria Especial de Direitos Humanos, *Comitê de Ajudas Técnicas da área da Pessoa com Deficiência discute reestruturação para ampliar sua atuação*, Disponível em: <http://www.sdh.gov.br/importacao/2010/10/29-out-2010-comite-de-ajudas-tecnicas-da-area-da-pessoa-com-deficiencia-discute-reestruturacao-para-ampliar-sua-atuacao>, (Verificado em 02 de Agosto de 2016).
5. Tecnologia Assistiva. *Subsecretaria Nacional de Promoção dos Direitos das Pessoas com Deficiência, Comitê de Ajudas Técnicas, Brasília*. 2009. Disponível em: <<http://www.pessoacomdeficiencia.gov.br/app/sites/default/files/publicacoes/livro-tecnologia-assistiva.pdf>> (Verificado em: 13 de Julho de 2016).
6. Ministério do desenvolvimento, da indústria e comércio exterior instituto nacional da propriedade industrial INPI - *Manual para o depositante de patentes* Disponível em: <http://www.inpi.gov.br/menu-servicos/patente/guia-completo-de-patente> (Verificado em 15 de Julho de 2016).
7. Pavanelli, MA. *Universidade e inovação científica e tecnológica: um estudo patentométrico na UNESP*. 2012. 89f. 2012 Dissertação - Mestrado em Ciência da Informação, Faculdade de Filosofia e Ciências, Universidade Estadual Paulista, Marília, São Paulo.
8. Instituto nacional da propriedade industrial - INPI. *Ministério da Indústria, comércio exterior e serviços*. Disponível em <<http://www.inpi.gov.br/>>. Acesso em 20 de junho de 2016.
9. Malavolta, L. *Introdução à propriedade intelectual: curso básico de capacitação para gestores de Propriedade intelectual*. 63 slides, 2008.
10. Póvoa, LMC. *Patentes de universidades e institutos públicos de pesquisa e a transferência de tecnologia para empresas no Brasil*. 2008. 127 f. Tese (Doutorado em Economia) -Centro de Desenvolvimento e Planejamento Regional, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.
11. Universidade tecnológica federal do Paraná (UTFPR) *Propriedade Industrial* - Disponível em: <<http://www.utfpr.edu.br/patobranco/estrutura-universitaria/diretorias/direc/nit/pi/propriedade-industrial>> (Verificado em 15 de julho 2016).
12. Inovação em Tecnologia Assistiva. In: *Programa de Inovação em Tecnologia Assistiva. FINEP 2015*. Disponí-

vel em:<<http://www.finep.gov.br/apoio-e-financiamento-externa/programas-e-linhas/inovacao-em-tecnologia-assistiva>> (Verificado em 13 de Outubro de 2016).

13. Rocha, AM., Silva, MS., Fernandes, FM., Torres, EA. Borges, ADJ. *Prospecção tecnológica de artigos e patentes sobre biodiesel no âmbito do programa nacional de produção e uso de biodiesel (PNPB)*. RIT - Revista Inovação Tecnológica, v. 5, n. 2, p. 04-20, 2015.

Recibido: 12/09/2017.

Aprobado: 20/05/2019.

RECYT

Año 21 / N° 32 / 2019 / 11–15

Análisis físicoquímico de biodiesel obtenido por mezclas de aceite de castor y aceite de freír

Physico-chemical analysis of biodiesel obtained from blends of virgin castor oil and waste frying oil

Daniela H. P. Guimarães^{1,*}, Lucas R. Aguirre¹, Bruna C. M. Gonçalves², Maria T. M. G. Rosa³, Wallyson R. Santos¹

1- Lorena Engineering School (EEL-USP) Estrada Municipal do Campinho, s/n, Lorena - SP – 12.602-810. Fone / Fax: +55 (12) 3159-5327; 2- University Center Teresa D'Ávila (UniFATEA); 3- Mackenzie Presbyterian University (CCT-Mackenzie)

* E-mail: dhguima@usp.br

Resumen

La producción de combustibles renovables ha tenido un gran impulso en los últimos años. Una alternativa es la producción de aceites vegetales con la capacidad de reemplazar todo o parte del diesel derivado del petróleo. El objetivo de este trabajo fue producir biodiesel a partir de mezclas de aceite de ricino virgen (VCO) y aceite de fritura (WFO) a partir de ruta etílica y catálisis alcalina y estudiar las propiedades físicas y químicas de los mismos. El biodiesel se obtuvo a partir de 5 diferentes materias primas: VCO (B1), WFO (B2) y tres mezclas diferentes (B3: 50% VCO; B4: 25% VCO; B5: 75% VCO). Las materias primas fueron evaluadas por el nivel de acidez, ácidos grasos libres, índice de saponificación y densidad. Para el biodiesel se determinó el índice de yodo, cetano, glicerina, ausencia de triglicéridos y reología. De acuerdo con los resultados, todas las muestras se encontraron dentro del estándar especificado para índice de yodo y densidad, pero el biodiesel de B1 presentó viscosidad y número de cetano no permitidos en la legislación. A pesar de que los resultados de B4 y B5 se ubicaron dentro de la legislación para biodiesel, B4 sería una mejor alternativa debido a una mayor cantidad de WFO.

Palabras clave: Biodiesel; Oleaginosas; Ricino; Transesterificación; Aceite de cocina usado.

Abstract

Renewable fuels production got a big boost in recent years. One alternative is the production of vegetable oils with the ability to replace all or partly the diesel fuel derived from oil. The objective of this work was to produce biodiesel from blends of virgin castor oil (VCO) and waste frying oil (WFO) from ethylic route and alkaline catalysis as well as to study the physical and chemical properties. Biodiesel was obtained from 5 different raw materials: VCO (B1), WFO (B2) and three different blends (B3: 50%VCO+50%WFO; B4:25%VCO+75%WFO; B5:75%VCO+25%WFO). The raw materials were evaluated by acidity level, free fatty acids, saponification index and density. For the biodiesel, the index of iodine, cetane, glycerin, absence of triglycerides and rheology was determined. According to the results, all samples were within the specified standard for iodine index and density, but B1 biodiesel showed viscosity and cetane number not allowed in the legislation. Despite the fact that B4 and B5 results were within the legislation for biodiesel, B4 would be a better alternative due to higher quantity of WFO.

Keywords: Biodiesel; Oilseeds; Castor beans; Transesterification, Waste cooking oil.

Introduction

Throughout the 20th century, petroleum refining products became the main form of energy generation and the main basis for the development of the chemical industry, generating a global dependence on this fossil fuel, making several countries susceptible to variations in the price of oil in the international market. However, the oil crisis, in the 70's and 80's, has given rise to several studies concerning the pyrolysis of triglycerides. With the risk of depletion

of some energy sources, especially fossil energy with no prospects of renewal, there is a motivation for the development of technologies that allow the use of renewable energy sources [1].

The burning of fossil fuels with the consequent release of greenhouse gases has intensified as society becomes more and more dependent on oil derivatives. This fuel, in addition to provoking innumerable and well-known environmental problems, is a finite resource, whose extraction process is becoming gradually more complex. This fuel

belongs to the category of non-biodegradable fuels. Moreover, pollutants, such as CO_2 , are released into the atmosphere during their burn, besides the possibility of sulfur oxides emission. Once the planet cannot assimilate all CO_2 released in the long term, the accumulation of this and other gases cause the greenhouse effect increasing [2-5].

Biodiesel is a vegetable oils and fats derived fuel, commonly obtained by transesterification using a catalyst agent. It is classified as a renewable and biodegradable fuel, with low emission of polluting compounds into the atmosphere. Therefore, biodiesel has been seen as the fuel of the future. Indeed, biodiesel totally or partially replaces petroleum diesel fuel in stationary diesel engines (generators of electricity, heat, etc.) or within the automotive industry (trucks, tractors, vans, cars, etc.) and can be used pure or mixed with diesel in different proportions [6-8].

Regarding the economic importance of biodiesel production, it can cooperate with the economic development of several regions of the world, since biodiesel can be produced from any source of fatty acids, however not all of them make the process industrially feasible. The use of waste oils and fats (frying oil, refining lees, sewage grease, vegetable oils or animal fats), which are out of legislation standards and useless for another ends, is promising since it avoids improper disposal [9]. The recycling of waste oils and fats for biodiesel obtaining can cooperate with the economic development of several regions of Brazil and other countries. Moreover, the consumption of biodiesel and its blends can reduce petrol dependence, as well as generate alternative jobs in less favorable geographic areas to other economic activities [10, 11].

Nowadays, issues associated with the environment have worsened significantly, in view of the disorderly increase in population and the subsequent generation of large amounts of recycling complex waste. At present, to ensure survival on the planet, every effort should be made in order to recycle most of the generated waste, including the oil used in frying. This material can be transformed in biodiesel by transesterification and reused as fuel. Considering that after successive re-use in frying the oil has its fatty acid composition and physico-chemical characteristics altered, therefore it becomes inadequate for food processing even when subjected to purification [12, 13].

In an attempt to contribute to the reduction of atmospheric pollution, the objective of this work was to produce biodiesel from blends of virgin castor oil (VCO) and waste frying oil (WFO) from ethylic route and alkaline catalysis as well as to study the physical and chemical properties.

Materials and Methodology

Raw material to obtaining the biodiesel

The biodiesel was obtained by the transesterification

reaction, from virgin castor oil (VCO), waste frying oil (WFO), and blends of VCO and WFO in different proportions as: B1 (100% VCO), B2 (100% WFO), B3 (50% VCO+50% WFO), B4 (25%VCO+75% WFO) and B5 (75% VCO + 25% WFO). The WFO samples, provided by an event company (which prepares snacks by immersion in heated soybean oil), were filtered in two stages: (i). larger particles and food residues were removed by a steel wool pad attached to a nylon sieve; (ii) smaller particles were vacuum-filtered with Whatman filter paper nº 2. The resulting filtrate was vacuum-dried for 90 min at 100° C, according to Zhang *et al.* [14].

Transesterification reaction to obtaining the biodiesel from the blends

Transesterification was carried out in a magnetic stirrer with heating (Model 753A, FISATOM), where 100 mL of each blend was heated to 55°C. After that, 33 mL ethyl alcohol and 1 g KOH (catalyst) were added to the reactional mixture with stirring in order to keep system uniform temperature (55°C) and homogeneity for 80 minutes. After that, the mixture was cooled down at room temperature and distilled under reduced pressure in order to remove ethyl alcohol excess. The resulting ester/glycerin mixture was transferred to a separating funnel and kept standing for 24 h, yielding two phases: biodiesel (upper phase) and glycerin (lower phase). After glycerin removal, biodiesel was washed and heated at 100°C for 15 min for water and residual ethyl alcohol removal [15, 16].

The yield of each biodiesel sample was calculated according to equation (1):

$$\% \text{ of yield} = \left(\frac{\text{Volume of biodiesel}}{\text{Volume of reactional mixture}} \right) \cdot 100$$

Where the volume of reactional mixture is the sum (oil blend + ethyl alcohol).

Physico-chemical parameters

The initial blend was characterized according to acidity level by Potentiometric Titration with NaOH 0,1N (ASTM D664 - 11a) [17], saponification index (ASTM D1387 - 89) [18], density (through a glass densimeter Anton Paar, model DMA 35N) (ASTM D1298 - 12b) [19] and free fatty acid composition (A.O.A.C., 2004) [20]. The free fatty acid composition was obtained with a gas chromatograph (Varian CG3800), using CP-WAX58 capillary column equipped with flame ionization detector, according Machado & Druzian [21].

The resulting biodiesel was characterized with respect to the acidity level [17], iodine value (ASTM D1959-97) [22], cetane number (ASTM D4737-10) [23], density (ASTM D1298 - 12b) [19] and glycerin by UV Spectroscopy [24]. The absence of triglycerides was

Table 1: Blend composition used as raw material for biodiesel obtaining and physical and chemical parameters.

Blend	Acidity (mgKOH/goil)	Free Fatty Acid (%)	Saponification Index (mgKOH / g oil)	Density (g/cm ³)	Fatty acid composition (wt%)					
					C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C22:0
B1	0.24 ± 0.01	1.52 ± 0.42	215.03 ± 0.56	0.96 ± 0.02	1.50±0.01	2.00±0.03	92.50±0.04	2.70±0.04	0.25±0.02	1.05±0.04
B2	1.82 ± 0.02	6.44 ± 0.77	328.99 ± 0.23	0.92 ± 0.01	11.40±0.02	3.28±0.00	22.18±0.00	56.24±0.01	6.90±0.01	0.00±0.00
B3	1.11 ± 0.40	4.46 ± 0.39	298.32 ± 0.14	0.94 ± 0.01	6.45±0.01	2.64±0.03	57.34±0.02	29.47±0.04	3.58±0.02	0.52±0.04
B4	1.70 ± 0.20	4.76 ± 0.40	311.92 ± 0.21	0.93 ± 0.01	8.93±0.01	2.96±0.00	39.76±0.03	42.86±0.00	5.24±0.02	0.26±0.04
B5	1.02 ± 0.01	3.90 ± 1.19	296.15 ± 0.16	0.95 ± 0.01	3.98±0.00	2.32±0.01	74.92±0.02	16.09±0.01	1.91±0.03	0.79±0.01

VCO: virgin castor oil;
WFO: waste frying oil;
C16:0: palmitic acid;
C18:0: stearic + dihydroxystearic acids;
C18:1: oleic + ricinoleic acids; C18:2: linoleic acid; C18:3: linolenic acid;
C22:0: behenic acid.

verified through proton nuclear magnetic resonance (¹H-NMR). The conversion rate was calculated as the percentage of oil transformed into biodiesel (ethyl esters), based on the data generated through Nuclear Magnetic Resonance (NMR in the infrared region), where the biodiesel samples were dissolved in chloroform and the spectra obtained in a Varian spectrometer (Mercury – 300MHz).

The rheological behavior of the biodiesel was analyzed in a rotating rheometer (Brookfield, LV - DVII), with the samples at 40°C. The rheograms were adjusted Casson and Power Law (Ostwald-de-Waele) models, and the rheological parameters obtained were: consistency coefficient (K), n: behavior index (n), Casson yield stress (K_{0C}) and Casson viscosity (K_C).

Results and Discussion

The results presented in Table 1, regarding the composition in fatty acids (by chromatographic analysis), show differences between the degree of unsaturation of the oils analyzed. That is, the blends with high VCO content (above 50%, that is, B1, B3 and B5) presented as the majority unsaturated fatty acid the oleic acid, presenting excellent quality characteristics; however, the blends containing the highest concentration of linoleic acid are those with frying oil in the highest proportions. These results are in agreement with those obtained by Silva [25], who analyzed the physical-chemical properties and profile of fatty acids in andiroba oil.

All blends present acidity values within the standards recommended by legislation, since all of them had an acidity level below than 3% [26]. The higher WFO acidity level can be explained by the break down and release of the triglycerides chains, considering that free fatty acids are produced by oxidation reactions that are intensified during the frying process [27].

The higher saponification index can be explained by the fact that the blends are not refined, which saponification index ranges from 177 to 187 mg_{KOH}/g , for top quality oils [28].

The density values of the blends corroborate with those found in the literature [29, 30]. According to the Brazilian standards recommended [31], the density specification for use in engines lies between the 0.85-0.90 g/cm³ range. Valente et al [30] observed this density specification in blends with 70% biodiesel from waste cooking oil or from castor oil in diesel fuel N° 2.

Regarding to the biodiesel yield, presented in Table 2, except for B1, yields higher than 50% of transesterification were observed (B4 > B2 > B5 > B3) and the lower reaction yield, observed in B1, can be attributed to the alkaline catalyst reaction with VCO free fatty acids, which resulted in soap.

As shown in Table 2, B1, B4 and B5 are in accordance with the legislation [32], which affirms that the maximum acidity level for biodiesel is 0.50 mg_{KOH}/g_{oil} . All the samples showed iodine index within the specified standard in a maximum value of 120 g_{I_2}/g_{oil} [29, 30] and the density is within the specified standard as well of 900 K/m [33].

A high amount of free glycerin was observed in the blends with high ricinoleic acid content (B1, B3 and B5). According with Vieira et al. [34], a reaction between the hydroxyl group of this fatty acid and the carboxyl group results dimers, which are detected as diglycerides, resulting in values that exceed the process expectation.

Respecting to cetane number, except for B1, the cetane number of biodiesel is in the allowed range (30-45). According with Lôbo, Ferreira and Cruz [29], the cetane number increases with the length of the non-branched carbon chain. As showed in Table 1, Ricinoleic acid is the predominant fatty acid in VOC, therefore a low cetane number for B1 was expected.

There was no significant difference between the results for proton nuclear magnetic resonance for B1 and B5 conversion rate (Table 2). However, increased amounts of WFO in the blend led to lower conversion rates. The conversion was greater when B3 was used as raw material for biodiesel production. A possible explanation for this would be the fact that the NMR methodology was unable to separate and quantify the individual sterols [28], since the methodology consists of the identification of the mo-

Table 2: Volumetric yield of the transesterification reaction and biodiesel physico-chemical parameters.

Blend	Composition	Transesterification Yield (%)	Acidity level (mgKOH/goil)	Iodine Index (gI ₂ /goil)	Density (g/cm ³)	Free glycerin (%)	Cetane number	Conversion rate* (%)
B1	100% VCO	28.46	0.27 ± 0.01	110.86 ± 2.32	0.95 ± 0.01	0.64 ± 0.01	24.46	40.08
B2	100% WFO	56.15	0.56 ± 0.01	99.05 ± 0.98	0.92 ± 0.01	0.02 ± 0.01	33.39	23.82
B3	50% VCO + 50% WFO	52.31	0.55 ± 0.02	77.99 ± 0.13	0.92 ± 0.01	0.28 ± 0.04	31.90	61.49
B4	25% VCO + 75% WFO	59.21	0.48 ± 0.01	93.01 ± 4.81	0.92 ± 0.01	0.03 ± 0.03	30.99	32.68
B5	75% VCO + 25% WFO	53.08	0.27 ± 0.01	76.30 ± 3.49	0.94 ± 0.09	0.33 ± 0.01	31.19	40.53

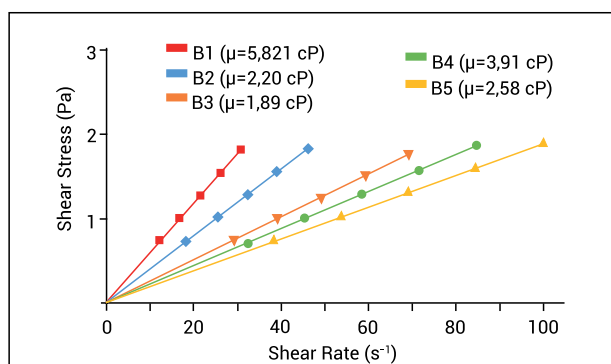
* obtained from spectrum analysis (NMR).

lecules present, in the region of 4.05–4.35 ppm, during a transesterification reaction by ¹H-NMR and certification by NMR 13C. That is, in the quartet generated by protons of ethoxy group (–OCH₂CH₃), the unfolding at lower chemical displacement (4.09) is the only resonance peak that does not overlap with any other mono-, di- or triglyceride.

Table 3 shows that all biodiesel samples presented the rheological behavior of a Newtonian fluid, since the values for behavior index (n) and Casson yield stress (K_{oc}) are close to 1 and 0, respectively and, thus, the rheogram can be represented by a straight line through the origin, as shown in Fig. 1. For this case, the parameter K equals the absolute viscosity of the Newtonian model, directly related to the internal friction of the biodiesel, that is, to the resistance to the flow.

Table 3: Rheological parameters of different biodiesel formulations.

Biodiesel samples	Power			Casson		
	K	n	r ²	K _{oc}	K	r ²
B1	0.95 ± 0.13	0.98 ± 0.01	0.99	0.03 ± 0.00	0.76 ± 0.07	0.99
B2	0.22 ± 0.11	0.99 ± 0.02	0.99	0.02 ± 0.00	0.47 ± 0.12	0.99
B3	0.21 ± 0.19	0.97 ± 0.03	0.99	0.09 ± 0.00	0.43 ± 0.05	0.99
B4	0.39 ± 0.12	1.01 ± 0.03	0.99	0.02 ± 0.00	0.63 ± 0.14	0.99
B5	0.28 ± 0.15	0.98 ± 0.04	0.99	0.06 ± 0.00	0.50 ± 0.18	0.99

K: consistency coefficient, n: behavior index, r²: correlation coefficient, K_{oc}: Casson yield stress.**Figure 2:** Rheograms of biodiesel formulations.

Conclusion

The blend composed by 25% VOC + 75% WFO (B4) showed up attractive with respect to oil reuse, cheapening the overall process and avoiding inappropriate waste disposal along with environmental pollution, besides all parameters are within the legislation.

Acknowledgements

The authors would like to thank Fapesp - Brazil (Process number 2014/27341-5) and the Lorena Engineering School (EEL/USP).

References

- Martin, M.; Grossmann, I.E., *On the Synthesis of Sustainable Biorefineries*, Industrial & Engineering Chemistry Research, 52: p. 3044–3083. 2012.
- Sharma, Y.C.; Singh, B.; Upadhyay, S. N., *Advancements in Development and Characterization of Biodiesel: A Review*, Fuel, 87(12): p. 2355–2737. 2008.
- Basha, A.S.; Gopal, K.R.; Jebaraj, S. A., *Review on Biodiesel Production, Combustion, Emissions and Performance*, Renewable and Sustainable Reviews, 13:p. 1628–1639. 2009.
- Fitzpatrick, M.; Champagne, P.; Cunningham, M.F.; Whitney, R.A., *A Biorrefinery Processing Perspective: Treatment Lignocellulosic Materials for the Production of Value-Add Products*, Bioresource Technology, 101(23): p. 8915–8922. 2010.
- Dogaris, I.; Mamma, D.; Kekos, D., *Biotechnological production of ethanol from renewable resources by Neurospora crassa: An alternative to conventional yeast fermentations*, Applied Microbiology and Biotechnology, 97: p. 1457–1473. 2013.
- Costa Neto, P.R.; Rossi, L.F.S., *Produção de Biocombustível Alternativo ao Óleo Diesel Através da Transesterificação de Óleo de Soja Usado em Frituras*, Química Nova, 23(4): p. 531–537, 2000.
- Ferrari, A.R.; Oliveira, V.S.; Seabio, A., *Biodiesel de Soja: Taxa de Conversão em Ésteres Etilicos, Caracterização Físico-Química e Consumo em Gerador De Energia*, Química Nova, 28(1): p. 19–23. 2005.
- Francisco, E.C.; Franco, T. T.; Maroneze, M. M.; Zepka, L.Q.; Lopes, E.J., *Third Generation Biodiesel Production from Microalgae*, Revista Ciência Rural, 45(2): p. 349–355. 2015.
- Godos, I.; Vargas, V.A.; Blanco, S.; Gonzáles, M.C.G.; Soto, R.; García-Encina, P.A.; Becares, E.; Munhoz, R.A., *Comparative Evaluation of Microalgae for the Degradation of Piggery Wastewater Under Photosynthetic Oxygenation*,

- Bioresource Technology, 101(14): p. 5150-5158, 2009.
10. Demirbras, A.; Demirbras, M. F. *Importance of Algae as a Source of Biodiesel*, Energy Conversion and Management, 52: p. 163-170, 2011.
 11. Silva, L.T.; Gouveia, L.; Reis S. A. *Integrated Microbial Processes for Biofuels and High Value-Added Products: The Way to Improve the Cost Effectiveness of Biofuel Production*, Applied Microbiology and Biotechnology, 98: p. 1043-1053, 2014.
 12. Brennan, L.; Owende, P. *Biofuels from Microalgae: A review of Technologies for Production, Processing and Extractions of Biofuels and Co-products*, Renewable and Sustainable Energy Reviews, 14 (2): p. 557 – 579, 2010.
 13. Xia, C.; Zhang, J.; Hu, B. *A New Cultivation Method for Microbial Oil Production: Cell Pelletization and Lipid Accumulation by Mucorcircinelloides*, Biotechnology for Biofuels, 4: p. 4 – 15, 2011.
 14. Zhang, Y.; Dube, M. A. ; McLean, D. D. ; Kates, M. *Biodiesel production from waste cooking oil: 1. Process design and technology assessment*, Bioresource Technology, 89: 1–16, 2003.
 15. Dantas, M. B. *Characterization, obtaining and thermo-analytical study of corn biodiesel*, Dissertation (Masters in Chemistry), Federal University of Paraíba, 2006.
 16. Silva, J. B. *Ethyl biodiesel production of waste frying oils a in low cost chemical reactor*, Dissertation (Masters in Mechanical and Materials Engineering), Federal University of Paraná, 2010.
 17. ASTM D664 - 11a. *Standard Test Method for Acid Number of Petroleum Products by Potentiometric Titration*. 2000.
 18. ASTM D1387 – 89. *Standard Test Method for Saponification Number (Empirical) of Synthetic and Natural Waxes*. 2010.
 19. ASTM D1298 - 12b. *Standard Test Method for Density, Relative Density, or API Gravity of Crude Petroleum and Liquid Petroleum Products by Hydrometer Method*. 2000.
 20. A.O.C.S. *American oil chemists' society official methods and recommended practices of the AOCS*, 2004.
 21. Machado, B.A.S.; Druzian, J.I. *Analysis of the stability of the composition in fatty acids in bottle butter produced in a handmade way*, Rev Inst Adolfo Lutz, 68: 35-42, 2009.
 22. ASTM D1959-97. *Standard Test Method for Iodine Value of Drying Oils and Fatty Acids*. 2006.
 23. ASTM D4737-10, *Standard Test Method for Calculated Cetane Index by Four Variable Equation*. 2016.
 24. Spudeit, D. A. *Determinação de parâmetros de qualidade do biodiesel utilizando espectrofotometria UV/VIS*, 2017. <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/99781/Daniel.pdf?sequence=1>
 25. Silva, L.R. *Propriedades físico-químicas e perfil dos ácidos graxos do óleo da andiroba*, Pesquisas Agrárias e Ambientais, 6(2): 147-152, 2018.
 26. Van Gerpen, J.; Shanks, B.; Prusko, R.; Clements, D.; Knothe, G. *Biodiesel Production Technology*, Colorado: National Renewable Energy Laboratory, USA, 100 p, 2004.
 27. Silva, T.A.R.; Neto, W.B. *Study of Reduction the Acidity from Residual Oil for Biodiesel Production Using Fractional Factorial Design*, Revista Virtual de Química, 5: 828-839, 2013.
 28. Freire, P.C.M.; Filho, J.M.; Ferreira, T.A.P.C. *Major physical and chemical changes in oils and fats used for deep frying: Regulation and effects on health*, Revista Nutrição, 26: 353-368, 2013.
 29. Lôbo, I.P.; Ferreira, S.L.; Cruz, R.S. (2009). *Biodiesel: quality parameters and analytical methods*, Química Nova, 32: 1596-1608, 2009.
 30. Valente, O.S.; Pasa, V.M.D.; Belchior, C.R.P.; Sodré, J.R. *Physical-chemical properties of waste cooking oil biodiesel and castor oil biodiesel blends*, Fuel, 90: 1700-1702, 2011.
 31. A.N.P. *Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis*, 2016. <http://www.anp.gov.br/>.
 32. ANVISA. *Consulta Pública nº 85, de 13 de dezembro de 2004*, D.O.U de 17/12/2004 Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/informes/11_051004.htm. Acesso em 10 de setembro de 2015.
 33. Moretto, E.; Fett, R. *Tecnologia de Óleos e Gorduras Vegetais na Indústria de Alimentos*, Varela Editora e Livraria Ltda, São Paulo, 1998.
 34. Vieira, J.A.V.; Chinelatto, L.S.J.; Menezes, S.C.; Cardoso, R. *Oligomerização do biodiesel de mamona durante o processo produtivo*. In: 3rd Congresso Brasileiro de Mamona, Energia e Ricinoquímica, 2006.

Recibido: 11/04/2018.

Aprobado: 10/05/2019.

RECYT

Año 21 / N° 32 / 2019 / 16–21

Análisis del consumo de agua y energía en el riego por surcos

Analysis of water and energy consumption in furrows irrigation

Oswal Madrigal Millian^{1,*}, Oscar Brown Manrique², Daniubis Luis Pelier¹, Yurisbel Gallardo Ballat¹, Lázaro Castellanos³

1- Departamento de Ingeniería Hidráulica. Facultad de Ciencias Técnicas.

Universidad de Ciego de Ávila "Máximo Gómez Báez", Cuba.

2- Centro de Estudios Hidrotécnicos (CEH). Facultad de Ciencias Técnicas.

Universidad de Ciego de Ávila "Máximo Gómez Báez", Cuba.

3- Estudiante de la carrera Ingeniería Hidráulica. Departamento de Ingeniería Hidráulica Mantenimiento.

Facultad de Ciencias Técnicas. Universidad de Ciego de Ávila "Máximo Gómez Báez", Cuba.

* E-mail: oswal@unica.cu

Resumen

Se muestran los resultados de la investigación desarrollada en un sistema de riego por surcos en la Finca Tío Pedro del municipio de Venezuela, provincia Ciego de Ávila, Cuba. El objetivo del trabajo fue determinar los indicadores hidráulicos y energéticos del riego por surcos para el aprovechamiento eficiente del agua y la energía eléctrica. Los resultados indican que el caudal promedio aportado por la bomba medido mediante los métodos volumétricos y flotadores es de 60 L s^{-1} . Las pérdidas unitarias de agua en el canal principal de riego son de $0,62 \text{ L s}^{-1} \text{ m}^{-1}$. Los indicadores energéticos del riego: consumo de energía eléctrica por unidad de volumen (E_v); consumo de energía eléctrica por unidad de producción (E_p); consumo de energía eléctrica por unidad de beneficio neto (E_b) alcanzaron valores globales de $0,56 \text{ kW m}^{-3}$; 290 kW t^{-1} ; y $90 \text{ W \$}^{-1}$, correspondiendo los mejores resultados al cultivo del tomate en todos los casos.

Palabras clave: Indicadores de riego, sistema de gestión energética, uso eficiente del agua.

Abstract

The results of the research developed in a furrow irrigation system at the Tío Pedro Farm in the municipality of Venezuela, Ciego de Avila province, Cuba are shown. The objective of the work was to determine the hydraulic and energy indicators of irrigation by furrows to the efficient use of water and electric energy. The results indicate that the average flow rate provided by the pump measured by volumetric and float methods is 60 L s^{-1} . The unit water losses in the main irrigation channel are $0,62 \text{ L s}^{-1} \text{ m}^{-1}$. The energy indicators of irrigation: consumption of electric energy per unit volume (E_v); consumption of electric energy per unit of production (E_p); consumption of electric energy per unit of net profit (E_b) reached global values of $0,56 \text{ kW m}^{-3}$; 290 kW t^{-1} ; and $90 \text{ W \$}^{-1}$, with the best results corresponding to the tomato crop in all cases.

Keywords: Irrigation indicators, energy management system, efficient water use.

Introducción

La agricultura es una actividad de gran importancia estratégica por constituir una base fundamental para el desarrollo autosuficiente y la riqueza de las naciones; sin embargo, requiere de la utilización de la energía eléctrica ampliamente utilizada en el regadío que es el mayor consumidor de agua y energía dentro del sector agrario. El regadío supone en algunas regiones más del 90% de los usos totales de agua [1].

El manejo y operación adecuada de los sistemas de riego se orientan hacia la reducción del consumo de agua y energía para la conservación eficaz de estos recursos

naturales. Para el cumplimiento de esta meta se requiere conocer el consumo de estos recursos y utilizar toda el agua disponible con menores costos y sin desperdicio a partir de sistemas de medición adecuados [2].

Las mayores pérdidas de agua asociadas al manejo inadecuado del agua se producen en el riego por gravedad que es el método más utilizado a nivel mundial [3]. En Cuba también ocurre este tipo de comportamiento y se debe principalmente a la carencia de una política de modernización de los sistemas por la falta de inversiones para su mejoramiento [4]. No obstante, esta situación puede mejorarse a partir del diseño, manejo correcto a nivel parcelario y la tecnificación del sistema [5,6].

Por otro lado los indicadores que relacionan el consumo de agua y energía constituyen herramientas que se construyen para el logro de diversos propósitos como: orientar el avance en relación a la consecución de objetivos y metas determinadas, encontrar las principales tendencias en la dinámica de los procesos y robustecer la evaluación integral de las variables de interés [7,8]. Su aplicación en un sistema de riego contribuye al mejoramiento del diseño y el manejo, al uso racional del agua y sobre todo a la evaluación del desempeño para su perfeccionamiento.

El objetivo del trabajo consiste en realizar la evaluación hidro energética del riego por surcos, mediante la determinación de indicadores que contribuyan al aprovechamiento eficiente del agua y la energía eléctrica.

Materiales y Métodos

La investigación se desarrolló en la Finca Tío Pedro del municipio de Venezuela, provincia Ciego de Ávila, Cuba que se encuentra ubicada a los 21°45'04" de Latitud Norte y 78°46'45" de Longitud Oeste.

El muestreo del suelo realizado a las profundidades pedológicas comprendidas entre 0-0,32m permitieron clasificar el suelo predominante en el área como Ferralítico Rojo Típico que se correlaciona con el orden Ferralsoles según la actual clasificación de los suelos de Cuba [9].

La investigación ocupó un área neta de 5,6 ha sembrada de tomate y frijol como se muestra en la tabla 1, donde se indica la variedad y el área que ocupa cada cultivo dentro del área de estudio, sembrada según las normas establecidas para este tipo de suelo [10]. Las fechas de siembra y cosecha se exponen en la tabla 2.

En el área de estudio se encuentra establecido un sistema de riego por surcos compuesto por una bomba accionada por un motor eléctrico, una obra de derivación mediante compuertas, un canal de mampostería, un canal principal y la red interna de riego. El área evaluable se estableció con dimensiones de 12 m x 62,9 m para un mejor control de las variables experimentales (figura 1).

En la tabla 3 se muestran algunas de las características técnicas e hidráulicas del sistema.

Tabla 1: Características de los cultivos y superficie sembrada.

Cultivo	Variedad	Área (ha)
Tomate	Latinoamericano 99-92	2,6
Frijol	Colorado Velazco Largo	3,0

Tabla 2: Fechas de siembra.

Cultivo	Fecha de siembra	Fecha de cosecha
Tomate	18/nov/2016	10/feb/2017
Frijol	15/ene/2017	06/abr/2017

Tabla 3: Parámetros de la bomba el pozo y el área de riego.

Parámetros	Observación
Tipo de Bomba.	Layne Memphis.
Velocidad de la bomba.	1356 rpm.
Consumo de energía.	0,25 kW h-1.
Profundidad del pozo.	9 m.
Nivel estático.	10 m.
Nivel dinámico.	11 m.
Diámetro del pozo.	50 mm.

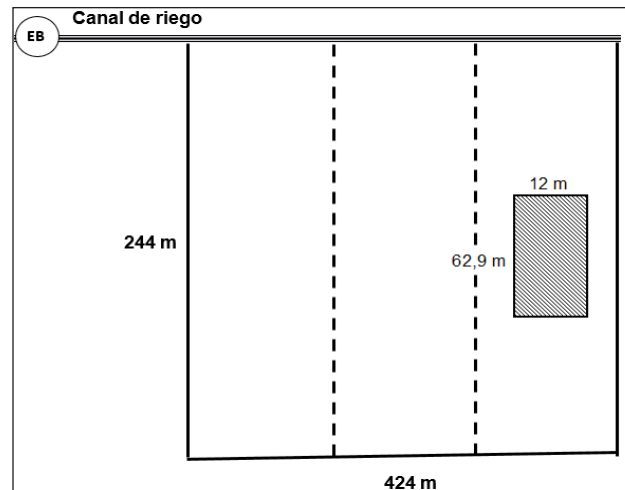


Figura 1: Esquema del área de estudio.

En la determinación del caudal de la bomba se utilizaron dos puntos: (a) medición del caudal en la tubería de descarga de la bomba y (b) medición del caudal en el canal de mampostería que recibe el caudal derivado por la bomba. La medición del caudal en la tubería de descarga se realizó por el método volumétrico [11,12] a partir de la medición del tiempo en que se llenó la obra de derivación del caudal construida junto a la bomba.

La medición del caudal en el canal de mampostería próximo a la bomba (largo de 2,0 m; ancho en la base de 0,40 m y altura promedio del tirante de agua de 0,30 m) se basó en la aplicación de la ecuación de continuidad [13]. La velocidad del agua en el canal se obtuvo con el método de flotadores [14], los cuales fueron confeccionados con poliestireno expandido. Este procedimiento se realizó en diez ocasiones para encontrar el valor promedio.

La medición del caudal en el canal de conducción del sistema también se realizó mediante la ecuación de continuidad y el método de los flotadores; teniendo en cuenta las características geométricas de la sección transversal de la zanja (para ancho máximo superficial de 0,90 m; ancho de la base de 0,45 m; altura máxima de 0,42 m y coeficiente de talud de 1,07) y la velocidad.

Las pérdidas de agua unitaria se determinaron en un tramo del canal con longitud de 30 m. La ecuación utilizada fue la siguiente:

$$P_{agua} = \frac{(Q_B - Q_{canal})}{L} \quad (1)$$

Donde P_{agua} es la pérdida de agua por unidad de longitud expresada en litros por segundo por metro ($L s^{-1} m^{-1}$);

Q_B es el caudal de la bomba ($L s^{-1}$); Q_{canal} es el caudal de circulación por el canal de conducción ($L s^{-1}$); L es la longitud del canal de conducción (m).

Los rendimientos agrícolas alcanzados en el área de estudio en condiciones de producción se estimaron en los cultivos objetos de estudio a partir del conteo directo del número de plantas (10 plantas aleatorias por parcelas para un total de 30 plantas en el área experimental), el peso promedio de cada producto y su relación con el área del marco de plantación que ocupan dentro del sistema productivo. Se utilizaron las ecuaciones siguientes deducidas a partir de los resultados del presente trabajo:

$$R = \frac{P_F \cdot N_F \cdot N_P}{1000} \quad (2)$$

$$N_P = \frac{A_{sem}}{A_{pm}} \quad (3)$$

$$A_{sem} = L \cdot B \quad (4)$$

$$A_{pm} = E_h \cdot E_p \quad (5)$$

Donde R es el rendimiento del cultivo en toneladas por hectáreas ($t ha^{-1}$); P_F el peso promedio de un fruto (kg); N_F el número promedio de frutos obtenidos en una planta; N_P el número de plantas promedio en un surco a partir del conteo de las plantas en tres surcos seleccionados al azar; A_{sem} el área sembrada del cultivo analizado (m^2); A_{mp} el área del marco de plantación (m^2); L la longitud de la parcela seleccionada (m); B el ancho de la parcela seleccionada (m); E_h el espaciamiento entre hileras (0,90 m); E_p el espaciamiento entre plantas (0,14 m).

Finalmente se proponen los indicadores energéticos del riego por surcos para los cultivos estudiados; estos son: energía consumida por unidad de volumen (E_V), energía consumida por unidad de producción (E_P) y energía por unidad de costo (E_C). Estos indicadores se calcularon mediante las siguientes ecuaciones:

$$E_V = \frac{E}{V} \quad (6)$$

$$E_P = \frac{E}{P} \quad (7)$$

$$E_C = \frac{E}{C} \quad (8)$$

$$P = R \cdot A_{sem} \quad (9)$$

$$V = M_p \cdot N_R \cdot A_{sem} \quad (10)$$

$$M_p = 100 P_r \cdot \rho \cdot (C - P) \quad (11)$$

Donde E_V es la energía consumida por unidad de volumen ($kW m^{-3}$); E_P la energía consumida por unidad de producción ($kW t^{-1}$); E_C la energía consumida por unidad de costo ($kW \$^{-1}$); V el volumen total de agua aplicada durante la fase fisiológica (m^3); E la energía consumida por el riego (kW); P la producción obtenida por la venta de la cosecha en toneladas (t); C el costo incurrido para obtener la producción (\$); A_{sem} el área sembrada del cultivo analizado (m^2); M_p la norma parcial de riego en metros cúbicos por hectárea ($m^3 ha^{-1}$) estimada según [15,16]; N_R el número de riegos; P_r la profundidad del sistema de raíces (m); ρ la densidad del suelo ($g cm^{-3}$); CC la capacidad de campo en porcentaje en base al suelo seco (%bss); LP el límite productivo en porcentaje en base al suelo seco (%bss).

Resultados y Discusión

Los valores de caudales descargados por la bomba en la caja de distribución de mampostería con dimensiones de 3,60 m de largo; 1,55 m de ancho y 0,17 m de altura de agua se muestra en la tabla 4, donde el valor promedio del caudal aportado por la bomba es de 60,47 $L s^{-1}$.

Tabla 4: Caudal de la bomba en la tubería de descarga.

Observaciones	t (s)	QB ($L s^{-1}$)
1	15,58	60,80
2	16,00	59,29
3	15,35	61,80
4	15,45	61,40
5	16,08	58,99
Media	15,69	60,47

Los valores de caudales de la bomba medidos en el canal de mampostería anexo a la caja de distribución se muestran en la tabla 5. Este canal con longitud de dos metros, ancho de 0,62 m, tirante hidráulico de 0,15 m y área hidráulica de 0,09 m^2 conduce un flujo de agua con una velocidad promedio de 0,35 $m s^{-1}$, por lo que el caudal de la bomba medido en este punto es de 59,70 $L s^{-1}$. Esta información nos permite comprobar que el caudal de la bomba puede asumirse con un valor de 60 $L s^{-1}$.

Tabla 5: Caudal de la bomba medido en el canal de mampostería.

Observaciones	t (s)	v ($m s^{-1}$)	QB ($L s^{-1}$)
1	6,00	0,33	56,67
2	5,45	0,37	62,39
3	6,02	0,33	56,48
4	5,50	0,36	61,82
5	5,56	0,36	61,15
Media	6,00	0,35	59,70

Los valores de caudales medidos en condiciones experimentales en un canal de riego principal a una distancia de 30 m del canal de mampostería se muestran en la tabla 6. Este canal presenta una geometría trapecial con ancho de la superficie libre del agua de 1,50 m; ancho de la base del canal de 0,10 m; tirante hidráulico de 0,30 m y área hidráulica de 0,24 m². Los resultados del aforo por el método de flotadores indican que el flujo de agua alcanza una velocidad promedio de 0,21 m s⁻¹ y un caudal promedio de 41,87 L s⁻¹.

Tabla 6: Caudal del canal de conducción del sistema.

Observaciones	t (s)	v (m s ⁻¹)	Q _B (L s ⁻¹)
1	9,20	0,22	42,39
2	9,47	0,21	41,18
3	9,38	0,21	41,58
4	9,23	0,22	42,25
5	9,30	0,22	41,94
Media	9,32	0,21	41,87

El flujo de agua que se mueve por el canal principal de tierra con longitud de 30 m, experimenta una pérdida de 0,62 L s⁻¹ m⁻¹ (tabla 7). Esta pérdida está relacionada con diversos factores, entre los que se destacan la presencia de hierbas en toda la sección del canal que crecen en la época de lluvias y durante el período de riegos debido a la humedad del suelo, influyendo en la pérdida por evapotranspiración e incremento de la rugosidad.

En la figura 2 se observa que las láminas de riego que se aportó al cultivo proveniente de las precipitaciones fueron inferior a la lámina neta requerida en todos los meses del ciclo vegetativo, excepto en la cuarta semana del mes de febrero y abril que se produjo una lluvia abundante.

Tabla 7: Pérdidas de agua por unidad de longitud en el canal de conducción.

Observaciones	Q _B (L s ⁻¹)	Q _{canal} (L s ⁻¹)	P _{agua} (L s ⁻¹ m ⁻¹)
1	60,89	42,39	0,62
2	59,29	41,18	0,60
3	61,80	41,58	0,67
4	61,40	42,25	0,64
5	58,99	41,94	0,57
Media	60,47	41,87	0,62

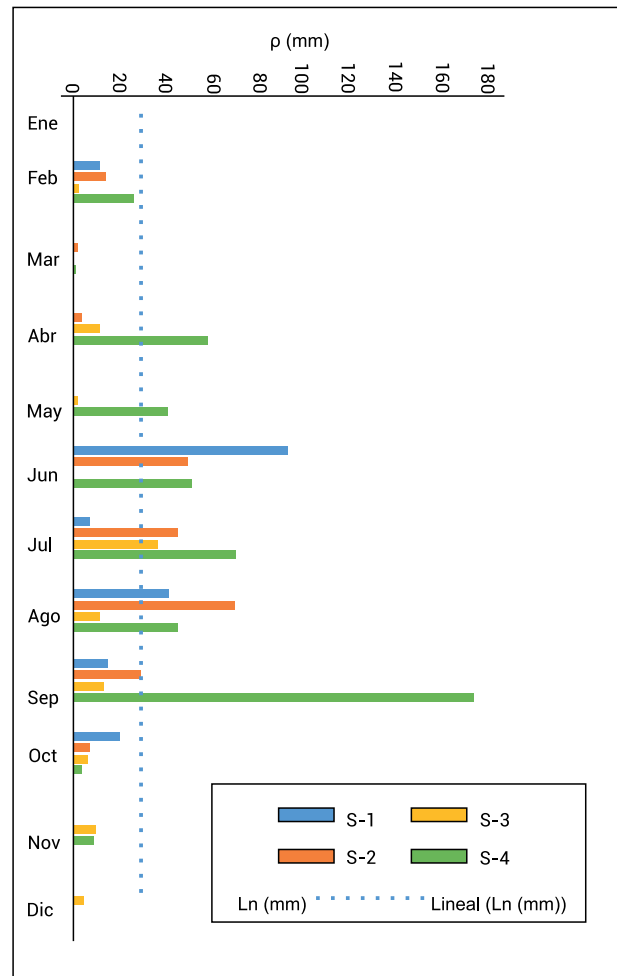


Figura 2: Lámina de lluvia semanal en el ciclo vegetativo del cultivo.

En la tabla 8 se muestra la cantidad de riego que recibieron los cultivos durante su ciclo fenológico. Se observa que en total se aplicaron 29 riegos de los cuales 15 correspondieron al tomate y 14 al frijol. En relación con la duración del tiempo de riego se obtuvo como promedio 4 horas para regar el área evaluada en cada cultivo.

En la tabla 9 se expone el volumen de agua aplicado para satisfacer la demanda hídrica de los cultivos según las propiedades del suelo y el contenido de humedad [15,16]. En ambos casos el volumen aplicado fue similar; sin embargo, el cultivo de frijol recibió una cantidad ligeramente inferior, que representó 0,96 unidades respecto al cultivo del tomate.

Tabla 8: Número de riegos por cultivo.

Cultivo	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	Total
Tomate	4	4	4	3			15
Frijol			4	3	4	3	14
Total	4	4	8	6	4	3	29

Tabla 9: Volumen de agua aplicado (m³)

Cultivo	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	Total
Tomate	2581,8	2940,6	3073,2	1562,6			10158,2
Frijol			3073,2	1562,6	2987,4	1890,2	9513,4
Total	2581,8	2940,6	6146,4	3125,2	2987,4	1890,2	19671,6

En la figura 3 se pudo comprobar que el consumo mensual de energía eléctrica con fines de riego en los cultivos de tomate y frijol es ascendente en correspondencia con las etapas fenológicas de estos cultivos; donde los valores más bajos se presentaron en los meses de siembra y cosecha; sin embargo, los consumos más elevados ocurren en los meses de enero y marzo debido a que en el primer caso coinciden las etapas de maduración y crecimiento del tomate y el frijol respectivamente y en el segundo caso, por corresponderse la maduración del frijol. En el período evaluado el consumo de energía eléctrica osciló entre 506,7 a 3571,4 kWh⁻¹.

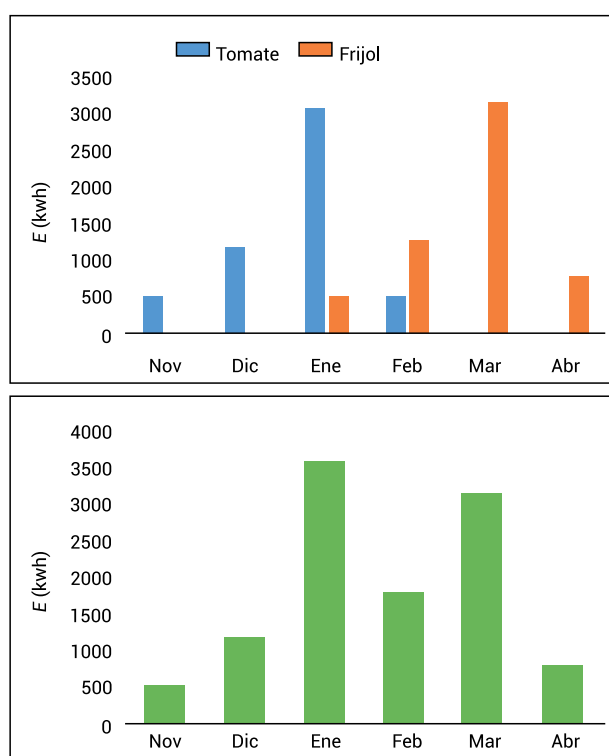


Figura 3: Consumo de energía eléctrica en kWh.

Los rendimientos alcanzados por el tomate y el frijol fueron de 13,3 t ha⁻¹ y 1,10 t ha⁻¹ (tabla 10), los cuales fueron inferiores al potencial agroproductivo de estos cultivos y respondieron a las condiciones climáticas y fitotecnias en que se desarrollaron. La producción total (P) fue de 37,8 t ha⁻¹, de las cuales 34,5t ha⁻¹ correspondieron al tomate y 1,1 t ha⁻¹ al frijol.

Si se relaciona este rendimiento con los costos totales (C_T) incurridos (figura 4) se comprueba que estos fueron de 9555,6 y 17000,0 pesos para el tomate y el frijol respectivamente; siendo el costo total para ambos cultivos de 26555,6 pesos. Esto indica que, en el caso del frijol, a pesar de lograr un rendimiento notablemente menor, los costos totales fueron más elevados en un 40% respecto al tomate.

En la tabla 10 se observa que se obtuvieron beneficios netos (B_n) de 85875,24 pesos y 59294,26 pesos para el tomate y el frijol respectivamente. Este resultado está directamente relacionado con el rendimiento obtenido;

pero recibe la influencia directa del precio de venta; es por esto que en el frijol a pesar de proporcionar un rendimiento bajo los beneficios netos fueron satisfactorios. El costo por peso de producción (C_{pp}) fue de 0,11 y 0,29 en el caso del tomate y el frijol respectivamente, demuestra que para producir un peso en el cultivo del frijol se debe algo más del doble en relación con el cultivo del tomate; no obstante, se justifica plenamente la producción de tomate y frijol bajo las condiciones de producción evaluadas; puesto que la relación beneficio costo (B/C) fue superior a la unidad en ambos cultivos.

Tabla 10: Indicadores económicos seleccionados.

Cultivo	R (t ha ⁻¹)	C _T (\$)	B _b (\$)	B _n (\$)	C _{pp}	B/C
Tomate	13,3	9555,6	85875,24	76319,64	0,11	7,99
Frijol	1,1	17000,0	59294,26	42294,26	0,29	2,49
Total	14,4	26555,6	145169,49	118613,89	---	---

En la figura 4 se muestra que el Indicador consumo de energía eléctrica por unidad de volumen obtuvo un valor total de 0,56 kW m⁻³. El cultivo del tomate se comportó más favorable con 0,56 kW m⁻³; mientras que en el cultivo del frijol fue de 0,60 kW m⁻³.

En la figura 4 se muestra que el indicador consumo de energía eléctrica por unidad de producción obtuvo un valor total de 290 kW t⁻¹. El cultivo del tomate manifestó un comportamiento más favorable al registrarse un valor más bajo de 153 kW t⁻¹; mientras que el cultivo del frijol fue el más consumidor de energía eléctrica al determinarse un valor de 1694 kW t⁻¹. Este resultado revela que para producir una tonelada de productos el cultivo del frijol consume más energía eléctrica respecto al cultivo de tomate.

Tabla 11: Indicador consumo de energía eléctrica por unidad de costo (EC).

Cultivo	E _c (W \$ ⁻¹)
Tomate	70,0
Frijol	130,0
Total	90,0

En la tabla 11 se muestra que el indicador energía consumida por unidad de costo (E_c) alcanzó un valor total de 90 W \$⁻¹; donde el cultivo del tomate manifestó el comportamiento más favorable al registrarse un valor de 70 W \$⁻¹; mientras que el cultivo del frijol fue el más consumidor de energía con un valor de 130 W \$⁻¹. Esto indica que desde el punto de vista financiero el cultivo del frijol requiere mayor cantidad de energía eléctrica por cada peso invertido para obtener el resultado productivo esperado.

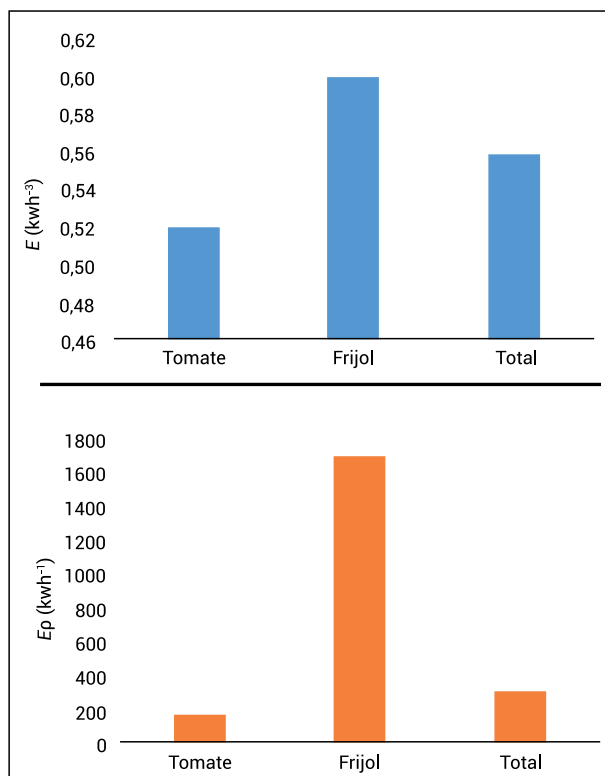


Figura 4: Indicador consumo de energía eléctrica por unidad de volumen y de producción.

Conclusiones

La investigación demostró que el caudal promedio aportado por la bomba medido con dos métodos diferentes: el volumétrico y el de flotadores alcanzan valores de 60 L s^{-1} .

El caudal promedio en el canal principal de riego es de $41,87 \text{ L s}^{-1}$; por lo que las pérdidas unitarias de agua por unidad de longitud son de $0,62 \text{ L s}^{-1} \text{ m}^{-1}$.

Los indicadores energéticos del riego: consumo de energía eléctrica por unidad de volumen (E_v); consumo de energía eléctrica por unidad de producción (E_p); consumo de energía eléctrica por unidad de costo (E_c) alcanzaron valores globales de $0,56 \text{ kW m}^{-3}$; 290 kW t^{-1} ; y $90 \text{ W \$}^{-1}$, correspondiendo los mejores resultados al cultivo del tomate en todos los casos.

Los resultados alcanzados proporcionaron la información necesaria para la evaluación del comportamiento del sistema en cuanto al consumo de agua, energía eléctrica y producción obtenida por el cultivo; lo que permite tomar las medidas correctivas necesarias para su mejoramiento.

Bibliografía

1. Tarjuelo, J. M. *El riego por aspersión y su tecnología*. Ediciones Mundi-Prensa. p 581. 2005.
2. Cadavid, J.H. *Hidráulica de canales: fundamentos*, Pri-

mera reimpresión, Fondo Editorial Universidad EA-FIT. P 392. 2009.

3. Sánchez, A., García, P. y Playán, E. *Modelo de simulación de riego por surcos inundados*. Ingeniería del Agua. Vol. 9(3): 333-346. 2002.
4. Pérez, R., Jiménez, E., Montero, L., Sarmiento, O. y Guzmán, J. *Resultados de diferentes alternativas de manejo del riego superficial tecnificado en el cultivo de la papaya Maradol Roja plantada con marco extradenso*. Revista Ingeniería Agrícola. Vol. 3(1): 8-16. 2013.
5. Santos, L., De Juan, J. A., Picornell, M. R. y Tarjuelo, J. M. *Editora Europa- América en Lisboa*. p 296. 2010.
6. Olivera, M., Bahena, G., Alpuche, O. y García, F. *La tecnificación del riego ante la escasez del agua para la generación de alimentos*. Revista Ambiente y Desarrollo. Vol. 18(35): 23-36. 2014.
7. Cervera, L.E. *Indicadores de uso sustentable del agua en Ciudad Juárez, Chihuahua*. Revista Estudios Fronterizos. Vol. 8, (16):9-41. 2007.
8. Quiroga, R. *Indicadores ambientales y de desarrollo sostenible: avances y perspectivas para América Latina y el Caribe*. CEPAL - Serie Manuales No. 55. p. 228. 2007.
9. Hernández, A., Pérez, J., Bosch, D. y Castro, N. *Clasificación de los suelos de Cuba*. Ediciones INCA. p 93. 2015.
10. MINAG. *Instructivo Técnico para el cultivo del frijol*. CIDA. p 1-15. 2009.
11. Roldan, J. y Moreno, M. F. *La ingeniería y la gestión del agua de riego en Al- Andalus*. Ingeniería del Agua. Vol. 14(3):223-236. 2007.
12. Moncada, D., Juárez, I., Gutiérrez, C. y Casillas, J. D. *Resultados de pruebas de un sistema de diagnóstico de medición por placa de orificio en laboratorio de flujo de CIA-TEQ*. Ingeniería Petrolera, Vol. 54(1):7-26. 2014.
13. Rázuri, L., Rosales, J.G. y Hernández, J.D. *Formulación de alternativas de uso del agua con base en el balance disponibilidad-demanda en la zona de Santa Rosa, sector La Hechicera del estado Mérida*. Uso del agua, Academia – Trujillo. Vol. 8(16): 46-64. 2009.
14. Assan, M.M., Maris, G.S., Demin, P. y Delgado, E. *Técnicas de medición de caudales en cauces abiertos*. Facultad de Ciencias Agrarias, Agrícola y Agroindustrial. Revista de Divulgación Técnica. (63):1-13. 2016.
15. Pacheco, J., Alonso, N., Pujol, P. y Camejo, L.E. *Riego y Drenaje*. Capítulo 3 Régimen de riego. Segunda edición. Editorial Félix Varela. p 23-75. 2007.
16. Sandoval, L.M., Juárez, M.I., Brown, O., Mujica, A., Bonilla, J.D., Gallardo, Y. *Mathematical Models for Flow Estimation in Suro Weirs Used in Irrigation Systems*. Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias. Vol. 26(3): 30-38. 2017.

Recibido: 10/07/2018.

Aprobado: 27/05/2019.

Optimización de las condiciones de cultivo para la producción de una *Poligalacturonasa Microbiana*

Optimization of culture conditions for the production of a *Microbial Polygalacturonase*

Silvana A. Maidana^{1,*}; Alicia A. Mieres²; Emilce R. Zubreski¹; María A. Martos¹

1- Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de

Misiones. Félix de Azara 1552, (3300) Posadas, Misiones, Argentina.

2- Facultad de Ciencias y Tecnología. Universidad Nacional de Itapúa. María Auxiliadora, Encarnación, Paraguay.

* E-mail: silvana.a.maidana@gmail.com

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de las condiciones de cultivo sobre la producción de una *Poligalacturonasa* (PGasa) por *Wickerhamomyces anomalus*. Las fermentaciones se realizaron en frascos agitados, en un medio sintético, variando las condiciones de cultivo (temperatura, pH y velocidad de agitación). Se aplicó inicialmente un diseño factorial 2³ y posteriormente la metodología de superficie de respuesta. Se evaluó la capacidad macerante del extracto enzimático sobre un tejido vegetal. El pH y la temperatura influyeron significativamente en la producción de la enzima PGasa, mientras que la influencia de la velocidad de agitación fue no significativa. Los mayores títulos se obtuvieron a 30° C y pH de 5,1; con un valor máximo de actividad PGasa de 18,84 UE/mL. El extracto enzimático fue capaz de macerar tejidos de pimiento morrón. Se obtuvieron extractos enzimáticos con elevada actividad PGasa, en las condiciones seleccionadas, de interés en tecnología de los alimentos.

Palabras clave: *Poligalacturonasa*; *Wickerhamomyces anomalus*; Diseño factorial; Diseño de Doehlert; Optimización.

Abstract

The objective of the present research was to evaluate the effect of the cultivation conditions on the production of a polygalacturonase (PGase) by *Wickerhamomyces anomalus*. Fermentations were carried out in agitated flasks, in a synthetic medium, varying culture conditions (temperature, pH and agitation). A 2³ factorial design was initially applied and then response surface methodology. The macerating capacity of the enzymatic extract on a vegetal tissue was evaluated. PH and temperature significantly influenced the production of PGase enzyme, while the influence of the stirring rate was not significant. The highest titles were obtained at 30°C and pH of 5.1; with a maximum PGase activity of 18.84 EU / mL. The enzymatic extract was able to macerate bell pepper tissues. Enzymatic extracts with high PGase activity were obtained, under selected conditions, of interest in food technology.

Keywords: *Polygalacturonase*; *Wickerhamomyces anomalus*; Factorial design; Doehlert desing, Optimization.

Introducción

Las enzimas son ampliamente utilizadas en la industria de alimentos ya que catalizan diversas reacciones que resultan en mayores rendimientos y mejor calidad del producto final. En la industria de procesamiento de frutas y vegetales las más importantes son las enzimas pécticas o pectinasas [1]. Estas enzimas son las responsables de la degradación de las sustancias pécticas presentes en la laminilla media y en la pared celular primaria de las plantas superiores. Según su modo de acción se clasifican en: poligalacturonasas (PGasas), pectinesterasas (PE), pectinliasas (PL) y pectatoliasas (PAL). Las PGasas pueden ser del tipo

endo-PGasas (EC 3.2.1.15) and exo-PGasas (EC 3.2.1.67), las cuales hidrolizan los enlaces glicosídicos α -(1,4) internos y externos de las moléculas de ácido galacturónico, respectivamente [2; 3].

Un tipo de PGasas, denominadas protopectinasas (PPasas), hidrolizan de forma restringida la protopectina presente en los tejidos vegetales, liberando pectina soluble, con la consiguiente separación de las células sin producir mayores daños, proceso denominado maceración [4]. En el proceso de maceración, los tejidos organizados de los vegetales, se transforman en una suspensión de células intactas, lo que les permite mantener sus propiedades nutritivas. El proceso de maceración es empleado en la

industria alimentaria para la obtención de néctares de fruta y vegetales, que se emplean en la alimentación de bebés y adultos mayores [5].

Las pectinasas utilizadas en la industria alimentaria son producidas comercialmente por *Aspergillus niger* [6]. La producción de enzimas a partir de las levaduras tienen ventajas comparadas con los hongos filamentosos, son unicelulares, su crecimiento es relativamente simple en medios de cultivo económicos, y además a muchas de ellas se las considera como microorganismos GRAS (Generalmente Reconocidos como Seguros). Otra ventaja de las levaduras es que sólo producen PGasas a diferencia de los hongos, que originan una compleja mezcla de enzimas pécticas [7].

La producción de enzimas microbianas, y los mecanismos que controlan su síntesis y secreción, están bajo la influencia de diversos factores, tales como el pH del medio, temperatura de incubación, velocidad de agitación, naturaleza y cantidad de la fuente de carbono y energía, etc. Estos factores deben ser estudiados a fin de optimizar el crecimiento adecuado del microorganismo y la producción de la enzima de interés [8]. Los diseños experimentales basados en estadísticas son aproximaciones muy eficientes que pueden llevarse a cabo con un gran número de variables simultáneamente y además, se puede estimar la interacción entre variables mejorando los rendimientos del proceso [9].

En Argentina y en Paraguay, la producción y utilización de enzimas en la industria de alimentos es una tarea pendiente, considerando que actualmente, la mayor parte de las enzimas utilizadas en la industria de alimentos son importadas. El presente trabajo podrá contribuir a incentivar la producción de enzimas microbianas para aplicarlas al sector alimentario [10].

Wickerhamomyces anomalus, es una levadura con actividad pectinolítica, autóctona de la provincia de Misiones, Argentina, aislada a partir de cáscaras de cítricos e identificada por métodos moleculares en el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Centro Regional Mendoza, San Juan [11]. Esta levadura, al crecer en un medio compuesto por glucosa como fuente de carbono y energía y pectina de citrus como inductor, produce extractos enzimáticos con actividad, endo-PGasa, fundamentalmente. Esta enzima también posee actividad PPasa, capaz de macerar tejidos vegetales [12].

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la influencia de factores físicos y químicos sobre el proceso de producción de PGasa por *W. anomalus*, a escala frascos agitados, mediante diseños factoriales y luego optimizar la producción enzimática mediante la metodología de superficie de respuesta.

Materiales y Métodos

Microorganismo

W. anomalus, levadura aislada en la Facultad de Ciencias. Exactas Químicas y Naturales, UNaM (Wa cepa 110, cepario del Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Biotecnología “Dr. Fernando O. Benassi”, FCEQyN, UNaM) [11].

Medio de cultivos

a) *Medio de propagación* (g/L): extracto de levadura (Sigma), 5; Triptona (Difco), 5; Glucosa (Britania), 10; Agar (Britania), 15; pH 5,0.

b) *Medio de producción*: glucosa (Britania), 10 g/L; pectina (Parafarm), 5 g/L; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 3 g/L; KH_2PO_4 , 1 g/L; MgSO_4 , 0,5 g/L; CaCl_2 , 0,1 g/L; solución de vitaminas (1000 ×), 1 mL/L; solución de aminoácidos (100 ×), 10 mL/L; solución de microelementos (1000 ×), 1 mL/L; pH 5,0 [13].

Solución (1000 ×) *de vitaminas* (Sigma) (μg/L): biotina, 2; pantotenato de Ca, 400; ácido fólico, 2; inositol, 2000; niacina, 400; ácido *p*-aminobenzoico, 200; piridoxina, 400; riboflavina, 200; tiamina, 400.

Solución (100 ×) *de aminoácidos* (Sigma) (mg/L): histidina, 10; metionina, 20 y triptófano, 20.

Solución de microelementos 1000 × (μg/L): $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 40; $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 200; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 400; $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 200; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 400.

Todos los componentes del medio fueron autoclavados (121° C, 15 min), excepto las vitaminas que se esterilizaron por separado mediante filtración a través de un papel de filtro celulósico (0,22 μm, Sartorius).

Producción de la enzima poligalacturonasa (PG)

Inóculo: A partir de cultivos jóvenes (24 h) de la levadura desarrollada en estrías de medio de mantenimiento, se efectuaron diluciones en agua destilada hasta una DO_{620} de 0,96.

Fermentación: Se inocularon frascos Erlenmeyers de 500 mL que contenían 95 mL del medio de producción (MP) con 5 mL del inóculo. Los mismos se incubaron a 30° C en una incubadora con agitación orbital (MRC, TOU-50N 25 mm de excentricidad) a 180 rpm, durante 16 h. Finalizada la etapa de fermentación, el cultivo se centrifugó, para remover las células de levaduras y el sobrenadante libre de células, al que se le denominó extracto enzimático (EE), se mantuvo a -18° C, hasta su utilización.

Diseño factorial

Las fermentaciones se realizaron variando las condiciones de cultivo (temperatura, pH y agitación), mediante la aplicación de un diseño factorial 2^3 . Estos factores

se analizaron en dos niveles: alto (+1) y bajo (-1). Las variables codificadas y las respectivas variables reales, se presentan en la Tabla 1. Basado en el diseño factorial, se confeccionó una matriz con 8 experimentos (Tabla 2). Las experiencias se realizaron en un orden aleatorio, con tres repeticiones y los resultados se presentan como valores medios. El análisis de los datos obtenidos se llevó a cabo con el programa estadístico Statgraphics Centurión XV.

Los cultivos se llevaron a cabo según se describió anteriormente y se incubaron bajo las condiciones determinadas según el diseño experimental planteado, durante 16 h. Se midió la actividad PGasa de los sobrenadantes por determinación de los grupos reductores liberados con el método de Somogyi-Nelson, usando AG como referencia [4].

Tabla 1: Valores reales y codificados de los factores según el diseño factorial 23.

Factor	Código	Niveles del factor	
		Alto (+1)	Bajo (-1)
Temperatura (° C)	A	50	30
pH	B	6	3
Agitación (rpm)	C	250	150

Tabla 2: Diseño a niveles alto y bajo para cada factor.

tc	A	B	C	Exp
1	30	3	150	1
a	50	3	150	2
b	30	6	150	3
ab	50	6	150	4
c	30	3	250	5
ac	50	3	250	6
bc	30	6	250	7
abc	50	6	250	8

A: Temperatura (° C); B: pH; C: Agitación (rpm)

Diseño experimental de Doehlert

Se aplicó la metodología de superficie de respuesta, utilizando el diseño experimental de Doehlert, para optimizar las condiciones de cultivo para la producción de PGasa por Wa cepa 110 [14]. Se realizaron un total de nueve experiencias que estudiaron el efecto de dos variables independientes a cinco niveles cada una, con tres repeticiones en el punto central [15]. Los factores estudiados fueron temperatura (30° C- 50° C) y pH (3-6). Los valores reales y codificados de las variables independientes de acuerdo al diseño experimental, se presentan en la Tabla 3.

Las fermentaciones se realizaron según se describió anteriormente. Las experiencias se realizaron por triplicado y se tomaron para los cálculos valores promedios. Las curvas de superficie de respuesta se obtuvieron a través del programa estadístico Statgraphics Centurión XV.

Tabla 3: Valores codificados y reales utilizados en el diseño experimental de Doehlert.

Experiencia	Valores codificados		Valores reales	
	Temperatura	pH	Temperatura (° C)	pH
1	1	0	50	4,5
2	0,5	-0,866	45	3
3	-0,5	-0,866	35	3
4	-1	0	30	4,5
5	-0,5	0,866	35	6
6	0,5	0,866	45	6
7	0	0	40	4,5
8	0	0	40	4,5
9	0	0	40	4,5

Aplicación del extracto enzimático

Se evaluó la capacidad macerante del EE de Wa cepa 110 sobre tejidos vegetales de pimiento morrón (*Capsicum annuum L.*). Para ello los frutos de morrón fueron lavados y cortados en cubos de aproximadamente 5 mm de cada lado. El proceso de maceración se llevó a cabo en frascos Erlenmeyers de 125 mL, los que contenían 15mL del EE y 35 mL de buffer acetato de sodio/ácido acético (BAc., 0,2 M, pH 4,5). Los frascos se incubaron a 180 rpm, en una incubadora con agitación orbital, durante 3,5 h, a 40° C. Las experiencias se realizaron por triplicado. El pH y la temperatura seleccionados para el proceso de maceración se encuentran dentro del rango de estabilidad de la enzima [5]. Una vez cumplido el tiempo de maceración correspondiente, el contenido total de cada frasco se filtró a través de malla de 20 mesh. El filtrado se recolectó en tubos cónicos graduados de 10 mL. La suspensión de células simples liberadas fue sedimentada a 5° C, durante 4 h [12] y luego secadas en estufa a 45° C hasta peso constante. La pérdida de coherencia de los tejidos y el peso de las células libres se utilizaron como indicadores de la actividad macerante [16]. La observación de células libres se efectuó mediante un microscopio Olympus, modelo CH-2, con un aumento de 400 ×. Los blancos del proceso de maceración se realizaron con la enzima inactivada. El rendimiento del proceso de maceración se expresó como porcentaje de células simples liberadas respecto al peso seco del tejido original (% p/p).

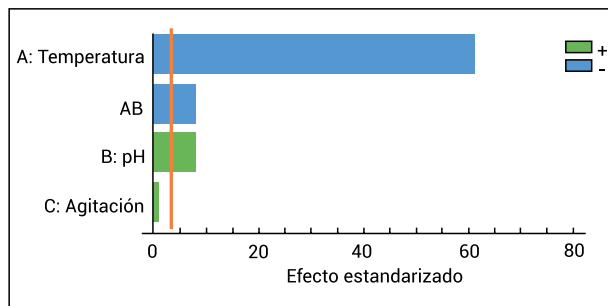
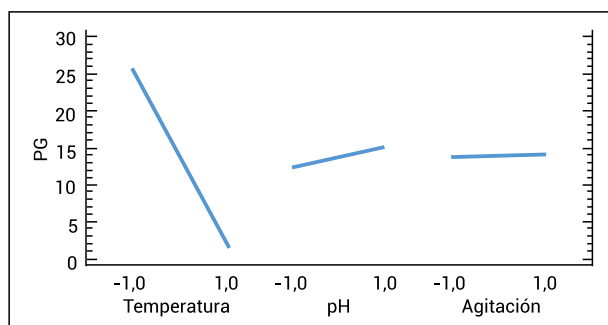
Resultados y Discusión

En la Tabla 4 se presenta el Análisis de Varianza para la producción de PGasa por Wa cepa 110 mediante el diseño factorial 2³.

Tabla 4: Análisis de Varianza para la producción de PG por Wa cepa 110 mediante el diseño factorial 2³.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Temperatura	1139,08	1	1139,08	3722,3	0,0000
B: pH	18,7884	1	18,7884	61,40	0,0043
C: Agitación	0,26645	1	0,26645	0,87	0,4196
AB	19,7192	1	19,7192	64,44	0,0040
Error total	0,91805	3	0,30602		
Total (corr.)	1178,77	7			

En la Figura 1 se presenta el Diagrama de Pareto y en la Figura 2 el gráfico de los Efectos Principales.

**Figura 1:** Diagrama de Pareto para la producción de PG por Wa cepa 110.**Figura 2:** Gráfica de los efectos Principales para la producción de PG por Wa cepa 110

La Tabla de ANOVA (Tabla 4) muestra que la temperatura, el pH y la interacción entre éstos, influyeron significativamente en la producción de la enzima, siendo el valor de P menor a 0,05, para un nivel de confianza del 95,0%. El R² estadístico (99,92%) indicó que el modelo presentó un buen ajuste a los datos experimentales.

El pH influyó de manera positiva sobre la producción de la enzima, mientras que la temperatura lo hizo de manera negativa, al igual que la interacción entre ambos factores. La velocidad de agitación no influyó sobre la misma variable de respuesta (Fig. 1). El aumento de temperatura mostró una marcada disminución en la producción de la enzima (Fig. 2).

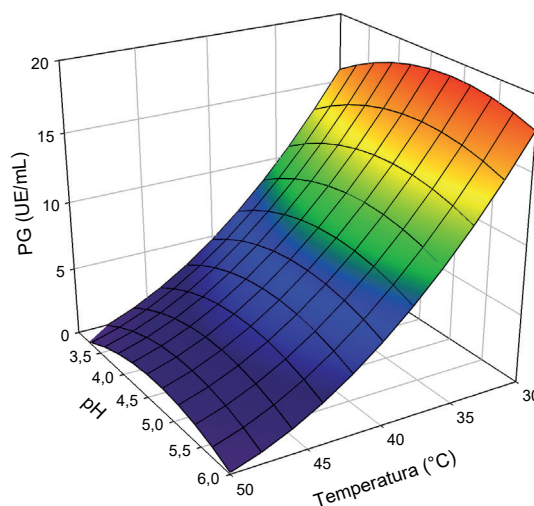
La producción de PGasa por Wa cepa 110 en las distintas experiencias realizadas según el diseño experimental de Doehlert (Tabla 3) se convirtieron en una ecuación polinomial de segundo orden que se presenta a continuación:

$$PGasa \left(\frac{UE}{ML} \right) = 7,363 - 8,525 * T + 0,759 * pH + 2,892 * T^2 - 2,645 * pH^2 \quad (1)$$

En dicha ecuación, la temperatura (T) y el pH, representan los valores codificados. La ecuación presentó un muy buen ajuste a los datos experimentales (R²= 0,99).

Según la ecuación 1, se puede puntualizar que las dos variables independientes tuvieron un efecto lineal significativo positivo (pH) y negativo (T). La temperatura fue la variable lineal más importante que afectó la producción de PG, ya que posee el mayor coeficiente de regresión. Ambos factores tuvieron efectos cuadráticos negativos (pH) y positivos (T), indicando la existencia de un máximo de producción para la temperatura y un mínimo para el pH.

En la Figura 3 se presenta la superficie de respuesta para la producción de PG en función de las dos variables independientes.

**Figura 3:** Superficie de respuesta mostrando el efecto de la temperatura y el pH sobre la producción de PG por *W. anomalus*.

La Figura 3 muestra que la mayor producción de la enzima se obtuvo a temperaturas bajas y pH en el rango de 5 a 6.

La ecuación 1 arrojó un valor máximo de producción de PG de 18,84 UE/mL a 30° C y pH 5,1. Esta temperatura de 30° C coincide con el valor más bajo ensayado, por lo tanto es posible suponer que la misma no se corresponde con la temperatura óptima para la producción de la enzima. Sin embargo se seleccionó esta temperatura mínima, a los efectos de evitar costos adicionales en el proceso, debido a la necesidad de refrigerar el cultivo en el biorreactor, en las épocas de elevadas temperaturas en la región.

Moyo y col. (2003) [17] determinaron que los efectos de la temperatura y el pH fueron los factores más significativos en la producción de enzimas con actividad pectinolítica de *Kluyveromyces wickerhamii*. Las condiciones óptimas estimadas fueron pH 5,0 y temperatura a 32° C. Otros autores informaron que la temperatura de fermentación ejerció un efecto significativo sobre la producción de PG por *Bacillus subtilis*, obteniéndose elevados rendimientos entre 30-35° C [18].

En la Figura 4 se muestra el tejido de pimiento morrón, luego del proceso de maceración con el EE de Wa cepa 110. En la Figura 5 se muestran microfotografías (400 ×) de las células liberadas del tejido vegetal, luego del tratamiento enzimático.

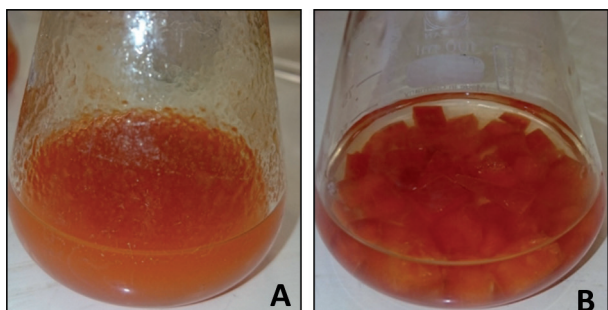


Figura 4: Tejidos de pimiento morrón macerados con el extracto enzimático (A). Blanco con la enzima inactivada (B).

Transcurridas 3,5 h de incubación se observó ablandamiento del tejido vegetal (Fig. 4 A). Los controles realizados con la enzima inactivada mostraron que el efecto de la maceración fue causado principalmente por la actividad PGasa presente en el extracto enzimático y no por efectos mecánicos productos de la agitación (shear) (Fig. 4 B).

El examen microscópico de los productos macerados mostró células simples liberadas y agregados celulares (Fig. 5 A) no se observó lisis de la pared celular. El rendimiento del proceso de maceración resultó del 98,02% (% p/p).

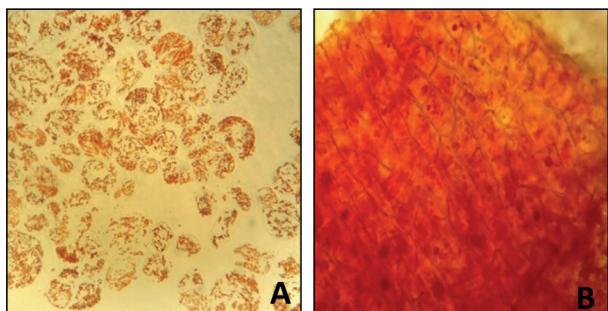


Figura 5: Microfotografías (400 ×) de células de tejidos de pimiento morrón macerados con el extracto enzimático de Wa cepa 110 (A), blanco con la enzima inactivada (B).

La actividad de la enzima producida por Wa cepa 110 se centra particularmente en la laminilla media (protopectina) que une entre sí a las células del tejido y no degrada celulosa, debido a lo cual, las células no se lisaron [11].

Conclusión

El pH y la temperatura influyeron significativamente en la producción de la enzima PGasa por Wa cepa 110, mientras que la influencia de la velocidad de agitación fue no significativa. Los mayores títulos se obtuvieron a 30° C y pH 5,1; con un valor máximo de producción de la enzima

(en el rango evaluado) de 18,84 UE/mL. Teniendo en cuenta las elevadas temperaturas imperantes en la región, durante los meses de verano, esta temperatura de 30° C permitiría realizar los cultivos a escala biorreactor sin la necesidad de refrigeración, evitando de esta manera costos adicionales al proceso.

El extracto enzimático de Wa cepa 110, fue capaz de macerar tejidos de morrón, observándose ablandamiento del tejido y células simple liberadas, sin evidenciarse ruptura celular, luego de 3,5 h de incubación.

Bibliografía

1. Tapre, A. R. y Jain, R. K. *Pectinases: Enzymes for fruit processing industry*. International Food Research Journal, 21(2): p. 447-453. 2014.
2. Tari, C.; Göğüs, N. y Tokatli, F. *Optimization of biomass, pellet size and polygalacturonase production by Aspergillus sojae ATCC 20235 using response surface methodology*. Enzyme and Microbial Technology, 40(5): p. 1108-1116. 2007.
3. Paudel, Y. P.; Lin, C.; Shen, Z. y Qin, W. *Characterization of pectin depolymerising exo polygalacturonase by Bacillus sp. HD2 isolated from the gut of Apis mellifera L.* Microbiology Discovery, 3 (2): 1–8. 2015.
4. Ferreyra, O. A.; Cavalitto, S. F.; Hours, R. A. y Ertola, R. J. *Influence of trace elements on enzyme production: Protopectinase expression by a Geotrichum klebahnii strain*. Enzyme and Microbial Technology, 31(4): p. 498-504. 2002.
5. Martos, M. A.; Butiuk, A. P.; Rojas, N. L. y Hours, R. A. *Purification and characterization of a polygalacturonase produced by Wickerhamomyces anomalus*. Brazilian Archives of Biology and Technology, 57(4): p. 587-594. 2014b.
6. Malvessi, E. y Da Silveira, M. M. *Influence of medium composition and pH on the production of polygalacturonases by Aspergillus oryzae*. Brazilian Archives of Biology and Technology, 47(5): p. 693-702. 2004.
7. Da Silva, G. E.; De Fátima Borges, M.; Medina, C.; Hilsdorf Piccoli, R. y Freitas Schwan, R. *Pectinolytic enzymes secreted by yeasts from tropical fruits*. FEMS Yeast Research, 5(9): p. 859-865. 2005.
8. Barragán, J. C. A.; Zerpa, S. A. I.; Castillo, M. L. S.; Haro, M. R.; Alarcón, W. N. y Gasco, F. O. *Efecto de la temperatura y pH sobre la actividad y estabilidad de pectinasas producidas por Bacillus spp.* Revista Científica de la Facultad de Ciencias Biológicas. 34(1): p. 33-41. 2014.
9. Díaz, A.; Flórez, J. y Cotes, A. M. *Optimización de un medio de cultivo para la producción de la levadura Pichia onychis (Lv027)*. Revista Colombiana de Biotecnología. VII(1): p. 51-58. 2005.
10. Yubero, F. *Relevamiento del uso de enzimas en la industria paraguaya y su aplicación en la producción de alimentos para animales*. Compendio de Ciencias

- Veterinarias, 6(1): p. 31-34. 2016
11. Martos, M. A.; Zubreski, E. R.; Combina, M.; Garro, O. A. y Hours, R. A. *Isolation of a yeast strain able to produce a polygalacturonase with maceration activity of cassava roots*. Food Science and Technology (Campinas), 33(2): p. 332-338. 2013a.
 12. Martos, M. A.; Zubreski, E. R.; Garro, O. A. y Hours, R. A. *Production of Pectinolytic Enzymes by the Yeast Wickerhamomyces anomalus Isolated from Citrus Fruits Peels*. Biotechnology research international, p. 1-7. 2013b.
 13. Martos, M. A.; Butiuk, A. P.; Rojas, N. L. y Hours, R. A. *Batch culture of Wickerhamomyces anomalus in a lab scale bioreactor for polygalacturonase production*. Revista Colombiana de Biotecnología, 16(2): p. 68-73. 2014^a.
 14. Doehlert, D. H. *Uniform Shell Designs*. Journal of the Royal Statistical Society, 19(3): p. 231-239. 1970.
 15. Butiuk, A. P.; Adachi, O. y Hours, R. A. *Yerba mate as a novel inducer for fungal chlorogenate hydrolase production*. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 4(3): p. 327-334. 2015.
 16. Schwan, R. F.; Cooper, R. M. y Wheals, A. E. *Endopolygalacturonase secretion by Kluyveromyces marxianus and other cocoa pulp-degrading yeasts*. Enzyme and Microbial Technology, 21(4): p. 234-244. 1997.
 17. Moyo, S.; Gashe, B. A.; Collison, E. K. y Mpuchane, S. *Optimising growth conditions for the pectinolytic activity of Kluyveromyces wickerhamii by using response surface methodology*. International Journal of Food Microbiology, 85(1-2): p. 87-100. 2003.
 18. Uzuner, S. y Cekmecelioglu, D. *Enhanced pectinase production by optimizing fermentation conditions of Bacillus subtilis growing on hazelnut shell hydrolyzate*. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 113: p. 62-67. 2015.

Recibido: 08/01/2018.

Aprobado: 14/02/2019.

Técnica de extracción, transformación y carga de datos de estaciones meteorológicas

Extraction, transformation and loading technique of meteorological stations data

Héctor Ramón Lépez^{1,*}

1- Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de San

Juan, Av. José Ignacio de la Roza Oeste 590, San Juan, Argentina

* E-mail: lepezhr@yahoo.com.ar

Resumen

Climatología y Meteorología son ciencias que utilizan datos como la temperatura del aire, la humedad, el viento o la precipitación para tomar medidas; es esencial tener la cantidad más grande de datos para reducir el margen de error. Estos datos son adquiridos por estaciones meteorológicas automáticas que pertenecen a organismos públicos y en menor medida privados. La mayoría de los datos se publican en Internet, sin embargo, los datos requeridos no siempre están disponibles en formatos estándar para intercambio de información. El objetivo de este trabajo de investigación es la construcción de un algoritmo para la adquisición de datos meteorológicos, basado en una técnica conocida en inglés como web scraping. El proceso consiste en la extracción, normalizar los datos y luego almacenarlos, para ser utilizados por herramientas geográficas o análisis estadísticos.

Palabras clave: Meteorología; Datos; Algoritmo; Adquisición; Scraping.

Abstract

Climatology and Meteorology are sciences that use data such as air temperature, humidity, wind or precipitation to take measurements; it is essential to have the largest amount of data to reduce the margin of error. These data are acquired by automatic meteorological stations that belong to public and to a lesser extent private organizations. Most data is published on the Internet, however, the required data is not always available in standard formats for information exchange. The objective of this research work is the construction of an algorithm for the acquisition of meteorological data, based on a technique known in English as web scraping. The process consists in the extraction, normalizing the data and then storing them, to be used by geographic tools or statistical analysis.

Keywords: Meteorology; Data; Algorithm; Acquisition; Scraping

Introducción

La Climatología y Meteorología son ciencias que utilizan datos como la temperatura del aire, humedad, presión atmosférica, viento o precipitaciones; variables que se obtienen de estaciones de medición automáticas también llamadas por sus iniciales (E.M.A.). Las E.M.A. pertenecen a organismos públicos y en menor medida a privados. Sin embargo, a menudo los datos requeridos no están disponibles en formatos de intercambio estándar para su inmediata utilización. Una de las dificultades a la hora de realizar pronósticos, sistemas de alertas climáticos o reportes, radica en poder recopilar la mayor cantidad de datos dispersos por la gran red de redes, analizarlos en conjunto, y obtener conclusiones que sirvan para el trabajo de científicos, analistas o expertos.

El objetivo es la construcción de un algoritmo de selección o recolección de datos meteorológicos por la web, este proceso se conoce en inglés como técnica de scraping.

Se puede conceptualizar scraping o web scraping, como “un proceso que implica la recuperación de un documento de internet, generalmente de una página web en un lenguaje marcado, y el análisis de ese documento con el fin de extraer datos específicos para su uso en otro contexto” Turland, M. (2010)[1]. Cuando Turland se refiere a lenguaje marcado apunta al conjunto de etiquetas que contienen información adicional acerca de la estructura del texto o su presentación.

El proceso de recolección de datos se basa en acceder a fuentes de distinto origen, normalización de los datos adquiridos y su posterior almacenamiento, para luego poder ser utilizados por herramientas geográficas o específicas de análisis estadístico.

En este trabajo de investigación se desarrolló la técnica de extracción, transformación y carga requerida para la toma de datos en tiempo real de los distintos sitios web de las estaciones meteorológicas automáticas (E.M.A.) Además de desarrollar un sistema de prueba y monitoreo de los datos capturados.

Métodos

Un programa que inspecciona las páginas del World Wide Web (WWW) de forma metódica y automatizada y que consisten en una búsqueda y extracción se denominan web crawlers, Penman, R. B., Baldwin, T., & Martinez, D. (2009)[2]. Una de las formas más utilizadas se basa en crear una copia de todas las páginas web visitadas para su procesamiento por un motor que indexa las páginas proporcionando búsquedas rápidas.

Una variante al crawler es el scrapers, ver figura 1, cuya principal diferencia es la búsqueda de cierto tipo de información. Dentro de las múltiples formas de aplicar scraping, se utiliza la búsqueda de palabras claves, también denominado concordancia de expresiones regulares, que busca palabras coincidentes en la programación del HyperText Markup Language (HTML) del sitio web.

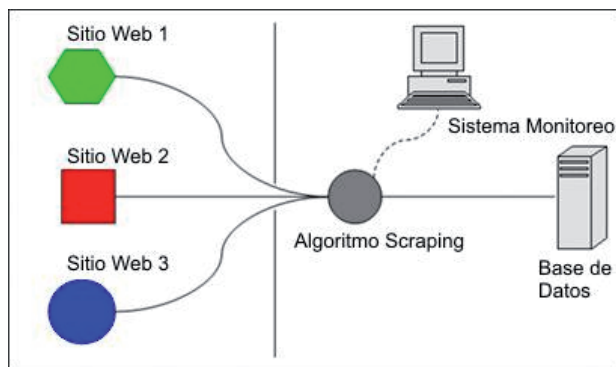


Figura 1: Representación del proceso de scraping.

La búsqueda de palabras claves, le permite al algoritmo de extracción obtener los datos de las estaciones meteorológicas, como por ejemplo la temperatura o la presión atmosférica. Para el desarrollo del algoritmo se utiliza código de programación Hypertext Preprocessor (PHP) que permite, a través de sus librerías, utilizar funciones para leer los datos de los sitios web de las distintas E.M.A. El proceso implica tener un diccionario de búsqueda y un patrón de sitios web definido. (Mehlführer, A. 2009) [3], es decir por ejemplo todas las estaciones meteorológicas de un organismo deberían tener un patrón definido para publicar los datos en un formato igual o similar, que simplifique la tarea del algoritmo de scraping.

Para la transformación de los datos es necesario convertir las variables que lo requieran en base a cálculos matemáticos. Por ejemplo, si se extrae un dato temperatura de un sitio web en grado Fahrenheit, se debe convertir a Celsius si así lo requiere.

Lenguaje de desarrollo del algoritmo

El lenguaje utilizado para el desarrollo del algoritmo es Hypertext Preprocessor (PHP), de uso general interpretado

por el servidor, originalmente diseñado para el desarrollo web de contenido dinámico.

PHP es práctico para el desarrollo de aplicativos ya que permite interactuar a través de sus drivers de conexión con diversos motores de bases de datos o archivos de textos. Además ofrece librerías que permite implementar los procesos de extracción de datos, estas funciones se encuentran contenidas en la extensión (cURL).

Extensión cURL

Este conjunto de funciones han sido añadidas a PHP en su versión 4.0.2. cURL, <https://curl.haxx.se/>, es una librería para conectar con servidores y poder transferir datos con ellos. La conexión se realiza con formato Uniform Resource Locator (URL). cURL sirve para realizar acciones sobre archivos que hay en Internet, soportando los protocolos de comunicación más comunes, como por ejemplo Hypertext Transfer Protocol (HTTP).

En lo que respecta a PHP, cURL no está integrado por defecto, de manera que para usar estas librerías se debe instalar el paquete libcurl.

Una consulta simple puede ser por ejemplo la siguiente Turland, M. (2010)(4) :

```
$c = curl_init('http://www.hidraulica.gob.ar/ema.php?station=concordia');
curl_setopt($c, CURLOPT_RETURNTRANSFER, true);
$a = curl_exec($c);
curl_close($c);
```

En este caso, la variable \$a contendrá el código fuente del sitio web indicado en curl_init. Para operar con HTML, PHP ofrece dos librerías que son GET y POST.

CRON en sistemas UNIX/LINUX

En los sistemas operativos basados en UNIX, como por ejemplo LINUX, existe un administrador regular de procesos en segundo plano llamado demonio que se ejecuta a intervalos regulares, por ejemplo, cada minuto, día, semana o mes. El nombre de este “demonio” es CRON. (Cron & Crontab, 2010) [5] y permitirá ejecutar de forma periódica el algoritmo de scraping.

Resultados

La primera parte del algoritmo consiste en extraer los datos de las diferentes fuentes u orígenes. Los entornos de origen son usualmente bases de datos y/o archivos, pero en ocasiones también pueden ser colas de mensajes, así como archivos u otras fuentes estructuradas, semiestructuradas o

no estructuradas. (Castillo Montalvan, L. F. R. 2011) [6]. Los sistemas web de las estaciones automáticas E.M.A. son páginas desarrolladas en lenguaje HTML o superior, JavaScript o Extensible Markup Language (XML) que son lenguajes estructurados.

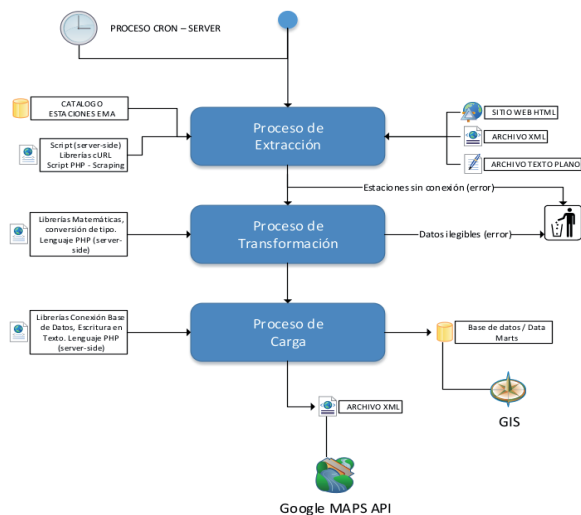


Figura 2: Diagrama de flujo del algoritmo completo.

Se detallan las implicancias en cada ítem con el correspondiente diagrama de flujo para el ítem de extracción, transformación y carga correspondiente a la figura 2.

Extracción

Paso 1. Obtener dirección web del inventario de estaciones EMA. El algoritmo intenta obtener de una tabla cargada en motor de base de datos, la primera dirección web o URL a procesar. En caso de obtener un error se descarta esa estación y se continúa con la siguiente de la lista. Algunos de los errores típicos son:

- Dirección web inexistente.
- Falla en la conexión a internet.
- Vencimiento del temporizador del protocolo de Internet.

El motor de base de datos para las pruebas se monta sobre sistema operativo LINUX y servidor web APACHE.

Paso 2. Identificar el lenguaje de programación.

Cada lenguaje maneja una estructura y palabras reservadas distintas, por lo tanto, se debe poder identificar qué tipo de origen es para poder extraer el dato. Cada tipo de lenguaje se identifica en su cabecera, por ejemplo HTML (`<!DOCTYPE html>`), JavaScript (`<script type="text/javascript">`) y XML (`<?xml version="1.0" encoding="UTF-8" ?>`). En caso de no poder identificar el lenguaje entonces se procede a buscar los valores en base a algún patrón conocido.

Paso 3. Identificar similitud en patrones.

La mayoría de los organismos y empresas poseen más

de una estación meteorológica, esto significa que utilizan el mismo formato de presentación de datos o estilo de diseño en sus sitios web. En el relevamiento para realizar el inventario de estaciones meteorológicas se identifica las estaciones con estructura web similar para armar plantillas específicas que agrupen a varias E.M.A. El algoritmo procede a identificar si la estación pertenece a un grupo de estaciones conocidas, obtiene de una tabla de la base de datos la huella clave para identificar a la web procesada.

Paso 4. Obtener plantilla de búsqueda de palabras claves de la base de datos. Las palabras claves son necesarias para aplicar el scraping a las páginas web de las diferentes estaciones EMA. El algoritmo obtiene la cadena de caracteres de búsqueda de información de una tabla almacenada.

Paso 5. Extracción por scraping.

Utilizando la técnica de búsqueda de palabras claves o también denominado concordancia o coincidencias de expresiones regulares, se extraen datos significativos. Estos datos se analizarán posteriormente para validarlos.

Transformación

Para entender la necesidad de un proceso de transformación, se debe tener en cuenta que en un proceso de extracción, transformación y carga (ETL), se manejan fuentes diversas. Esta variedad de sitios web, en ocasiones de varios países, con diferentes idiomas y distintas unidades de medida, imposibilita o dificulta la posibilidad de realizar comparaciones si con anterioridad no se realizan conversiones y normalizaciones. De ahí la necesidad de los procesos de transformación. (PowerData, 2016) [7].

Paso 1. Eliminar datos fuera de fecha.

Se procede a eliminar todos aquellos datos leídos donde se identifique que la fecha de publicación no es la actual. Esto ocurre cuando el sitio web de la estación deja de publicar datos por la razón que fuere y permanecen en el sitio datos antiguos.

Paso 2. Eliminar datos con caracteres carentes de significado.

Se procede a eliminar todos aquellos datos leídos donde se identifique caracteres que no corresponden a la variable, por ejemplo un valor de temperatura que sea “#” significa que la estación no tiene ese dato procesado o que existe un falla en la misma.

Paso 3. Reformateo de datos.

Se procede a unificar los datos en unidades con decimal separado por punto. Es decir si se tiene un valor de temperatura que es 16,2 se formatea en 16.2.

Paso 4. Conversión de unidades.

Se procede a estandarizar los datos en grados Celsius, milímetros para las precipitaciones y hectopascal para la presión atmosférica. Muchos sitios contienen valores por ejemplo en grados Fahrenheit.

Carga

La última parte del proceso (ETL) es la fase de carga, el momento en el cual los datos procedentes de la fase de transformación son cargados en la base de datos.

Fundamentalmente, existen dos tipos de carga:

- **Inserts:** Es un sistema de acumulación simple consistente en el transporte de la información en grandes bloques de datos, previamente calculados en función, generalmente, de un valor sumatorio o de un promedio de la magnitud considerada. Se trata de la forma más sencilla y común de llevar a cabo un proceso de carga, pero tiene el inconveniente de que ante un accidente o problema, ya sea un corte de luz, un fallo del disco, etc., se pierde la consistencia de los datos, pudiéndose darse el caso de tener que repetir toda la carga.

- **Loads:** En este caso, la carga se realiza de forma más escalonada y segura. Para ello, el sistema agrupa la información de forma automática y transparente según distintas variables: ya sea por fechas, por un número determinado de registros, etc. Esta modalidad permite procesar el punto exacto hasta el que se ha realizado la carga, lo que supone que si se produce un fallo sólo hay que retomar el proceso de carga desde ese punto concreto, sin necesidad de repetirlo todo de nuevo.

Cuando se utiliza un sistema insert el nivel de consistencia se reduce, puesto que una falla puede obligar a una repetición íntegra del proceso. Sin embargo, la duración del tiempo de carga es menor.

En el caso particular de este trabajo, se utiliza un sistema loads, por las siguientes razones:

- Se asegura lo más posible la consistencia de los datos que se están cargando.
- Se prioriza la calidad de la carga antes que la rapidez.
- No se sobrecarga el servidor con operaciones asociadas a grandes cantidades de datos.
- Se atomiza los procesos por estación y por intervalo de tiempo.

Codificación del Algoritmo

El siguiente código documentado en lenguaje PHP, permite extraer datos de una estación que publica en formato XML. Se realiza además el proceso de transformación de unidades. La programación fue simplificada para ejemplificar la extracción de una estación.

```
<?
//OBTENER URL
//Devuelve un manipulador de cURL si todo fué bien,
FALSE si hay errores.
$c =
curl_init('http://api.wunderground.com/weatherstation/WXCu-
rrentObXML.asp?ID=IBUENOSA73');
//Establece una opción en la sesión del recurso cURL.
```

```
curl_setopt($c, CURLOPT_RETURNTRANSFER, true);
//Ejecuta la sesión cURL que se le pasa como parámetro.
$a = curl_exec($c);
//Esta función cierra una sesión CURL y libera todos sus
recursos.
curl_close($c);
//Latitud
$sft = strpos($a, '<latitude>') + strlen('</latitude>');
$latitud = (float)($a[$ft-
1].$a[$ft+0].$a[$ft+1].$a[$ft+2].$a[$ft+3].$a[$ft+4].$a[$
ft+5].$a[$ft+6].$a[$ft+7].$a[$ft+8]);
//Longitud
$sft = strpos($a, '<longitude>') + strlen('</longitude>');
$longitud = (float)($a[$ft-
1].$a[$ft+0].$a[$ft+1].$a[$ft+2].$a[$ft+3].$a[$ft+4].$a[$
ft+5].$a[$ft+6].$a[$ft+7].$a[$ft+8]);
//Altura en Pies
$sft = strpos($a, '<elevation>') + strlen('</elevation>');
$altura_ft = (float)($a[$ft-1].$a[$ft+0].$a[$ft+1]);
//Transformación Pies a Metros
$altura_m = ($altura_ft/3.2808);
//Última actualización
$sft = strpos($a, '<observation_time_rfc822>') + strlen('</
observation_time_rfc822>');
$fecha = ($a[$ft-
1].$a[$ft+0].$a[$ft+1].$a[$ft+2].$a[$ft+3].$a[$ft+4].$a[$
ft+5].$a[$ft+6].$a[$ft+7].$a[$ft+8].$a[$ft+9
]);
//Temp C
$sft = strpos($a, '<temp_c>') + strlen('</temp_c>');
$temp = (float)($a[$ft-1].$a[$ft+0].$a[$ft+1].$a[$ft+2]);
//Precipitación en in (pulgadas)
$sft = strpos($a, '<precip_today_in>') + strlen('</pre-
cip_today_in>');
$llovuvia_in = (float)($a[$ft-1].$a[$ft+0].$a[$ft+1].$a[$
ft+2]);
//Transformación In a MM
$llovuvia_mm = ($llovuvia_in/0.039370);
//Intensidad
$sft = strpos($a, '<precip_1hr_in>') + strlen('</pre-
cip_1hr_in>');
$intensidad_in = (float)($a[$ft-1].$a[$ft+0].$a[$ft+1].$a
[$ft+2]);
//Transformación In a MM
$intensidad_mm = ($intensidad_in/0.039370);
//Presion en MB
$sft = strpos($a, '<pressure_mb>') + strlen('</pres-
sure_mb>');
$presion_mb = (float)($a[$ft-1].$a[$ft+0].$a[$ft+1].$a[$
ft+2].$a[$ft+3].$a[$ft+4]);
//Transformación MB a Hpa
$presion_hpa = ($presion_mb);
//Humedad Relativa
$sft = strpos($a, '<relative_humidity>') + strlen('</rela-
tive_humidity>');
```

```
$humedad = (float)($a[$ft-1].$a[$ft+0].$a[$ft+1].$a[$ft+2]);
//Resultado
echo "LATITUD : ".$latitud."<br>";
echo "LONGITUD : ".$longitud."<br>";
echo "ALTURA MSNM : ".$altura_m."<br>";
echo "FECHA : ".$fecha."<br>";
echo "TEMPERATURA C° : ".$temp."<br>";
echo "PRECIPITACIÓN DIA MM : ".$lluvia_mm."<br>";
echo "PRECIPITACIÓN 1 HORAMM : ".$intensidad_mm."<br>";
echo "PRESIÓN ATM HPA : ".$presion_hpa."<br>";
echo "HUMEDAD RELATIVA : ".$humedad."<br>";
?>
```

Conclusiones

La necesidad de obtener datos meteorológicos de distintas estaciones automáticas, la falta de un lugar único o repositorio unificado desde donde poder consultarlos, sumado a la escasez de los mismos, motivó el trabajo de investigación. (Héctor R. López, 2017) [8].

Se investigaron distintas alternativas para poder extraer datos publicados por estaciones meteorológicas en tiempo real, optándose por herramientas de extracción web en Scraping.

A través de herramientas scraping, se logró enfocar el objetivo, desarrollar una técnica de extracción, transformación y carga, también conocida como ETL. Mediante éste instrumento se consultaron páginas HTML de estaciones E.M.A. con diversos formatos, distintos orígenes y se extrajeron variables como temperatura, precipitaciones, humedad, entre otras.

Sistemas operativos actuales, como LINUX, permiten programar las lecturas de datos en intervalos preestablecidos, automatizando la ejecución del algoritmo desarrollado.

Se construyó un inventario de estaciones reportando en todo el territorio Argentino. El inventario, de más de 500 estaciones, abarca organismos oficiales, empresas, cooperativas y terceros.

El lenguaje de programación PHP fue una herramienta clave para el desarrollo, ya que a través de sus librerías cURL se codificó el núcleo del algoritmo.

cURL, permitió abrir conexiones en una amplia variedad de protocolos y conectar a distintos entornos, como el web o XML.

Se normalizaron y almacenaron esas variables extraídas en un motor de base de datos para su posterior consulta y además para que puedan ser utilizadas por sistemas geográficos.

Se desarrolló un sistema de monitoreo geográfico con la herramienta API Google Maps, disponible para expertos, analistas y científicos.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional de San Juan, la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, al Departamento de Posgrado y al equipo de docentes de la Maestría en Informática por compartirme sus conocimientos y experiencia.

Al Magister Ing. Raúl Klenzi que, como director de esta tesis, me ha orientado, apoyado y corregido en mi labor académica con un interés y una entrega incansable.

Al Doctor Ing. Oscar Dölling una persona que sabe inspirar la pasión por la investigación y el trabajo.

A mi esposa, mi hijo, mis padres, mi hermana, que siempre me apoyaron incondicionalmente y son los pilares de mi vida.

Bibliografía

1. Turland, M. PHP. Marco Tabini & Associates. Inc. 2010.
2. Penman, R. B., Baldwin, T., & Martinez, D. *Web scraping made simple with sitescraper*. 2009.
3. Mehlführer, A. *Web scraping: a tool evaluation*. 2009.
4. Cron & crontab. *Visible Body: Cron & Crontab*. 2010. Recuperado de <http://blog.desdelinux.net/cron-crontab-explicados/> - Accedido 2016.
5. Castillo Montalvan, L. F. R. *Aplicación de la metodología de Amón y Jiménez para asegurar la calidad de los datos en la construcción del ETL durante la implementación de un datamart para la Empresa MC Express de la ciudad de Chiclayo*. 2011.
6. PowerData. *Visible body: Procesos ETL: Transformación. ¿En qué Consiste?*. Recuperado de: <http://blog.powerdata.es/el-valor-de-la-gestion-de-datos/bid/312589/Procesos-ETL-Transformaci-n-En-qu-Consiste> - . 2016. Accedido 2016.
7. López, Héctor R. *Técnica de Extracción, Transformación Y Carga de datos de Estaciones Meteorológicas*. Maestría En Informática. 2017.

Recibido: 07/08/2018.

Aprobado: 03/10/2018.

RECYT

Año 21 / N° 32 / 2019 / 33–38

Perfil lipídico de tres especies de pescados de agua dulce: Boga (*Leporinus obtusidens*), Dorado (*Salminus brasiliensis*) y Surubí (*Pseudoplatystoma coruscans*)

Lipid profile of three species of freshwater fish: Boga (*Leporinus obtusidens*), Dorado (*Salminus brasiliensis*) and Surubí (*Pseudoplatystoma coruscans*)

María C. Ciappini^{1,*}, María B. Gatti¹, Priscilla N. Chain¹, María S. Cabreriso¹¹- Facultad de Química, Universidad del Centro Educativo Latinoamericano, S2000 BUN, Rosario, Santa Fe, Argentina.

* E-mail: laboratorio@ucel.edu.ar

Resumen

El conocimiento de la composición lipídica de los pescados de agua dulce es escaso, a pesar de contribuir a la dieta con ácidos grasos benéficos para la salud. En este trabajo se determinó materia grasa, humedad, proteínas, cenizas y perfil de ácidos grasos (AG) de Boga, Dorado y Surubí. El contenido de proteínas osciló entre 15 y 18 g/100 g para las tres especies. La especie Dorado puede considerarse como pescado magro (2,8 g/100 g), mientras que Boga (8,6 g/100 g) y Surubí (16,9 g/100g) como grasos; la relación AG saturados/ AG insaturados se aproximó a 1:2, predominando los AG-n-6. Surubí presentó el mayor contenido de eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) por porción comestible. Por su predominio de ácidos grasos insaturados, puede recomendarse el consumo de estas especies, como parte de una alimentación saludable.

Palabras clave: Boga; Surubí; Dorado; Lípidos; Pescados.

Abstract

The knowledge of the lipid composition of freshwater fish is scarce, despite contributing to the diet with beneficial fatty acids for health. In this work the fat, moisture, proteins, ashes and fatty acid profile of Boga, Dorado and Surubí were determined. The protein content ranged between 15 and 18 g/100 g for the three species. Dorado can be considered as lean fish (2.8 g/100 g), while Boga (8.6 g/100 g) and Surubí (16.9 g/100 g) as fatty; the saturated AG / unsaturated AG ratio approached 1:2, with n-6-AG predominating. Surubí had the highest content of eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA) per edible portion. Due to its predominance of unsaturated fatty acids, the consumption of these species can be recommended, as part of a healthy diet.

Keywords: Boga; Surubí; Dorado; Lipids; Fish.

Introducción

En las últimas décadas se ha estudiado el efecto del consumo de las grasas en la salud humana. Existen pruebas que vinculan el consumo de algunos AG con un mayor riesgo de enfermedades coronarias [1]. El tipo de grasa consumida se relaciona con el riesgo cardiovascular [2], por lo que resulta necesario visualizar a los AG como un bloque dietético diferenciado. Los AGS con 12 a 16 átomos de carbonos tienden a aumentar los niveles plasmáticos de colesterol total, LDL y HDL; el ácido mirístico (14:0) aparece como el principal causante de este efecto, seguido por el ácido láurico (12:0) y el palmítico (16:0). El ácido esteárico (18:0), en cambio, no causaría ese efecto [3]. Por su parte, los ácidos eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) poseen efectos beneficiosos. En términos cardiovasculares, EPA y DHA reducen la presión arterial, la mortalidad por causa cardiovascular y

los eventos coronarios [4]. La información disponible de los beneficios aportados por EPA y DHA, permitió concluir que hay evidencia consistente y convincente para su recomendación en la prevención primaria de la enfermedad cardíaca en la población general [5].

Estos AG se encuentran principalmente en mariscos y pescados. El consumo de productos de pesca es muy bajo en una proporción importante de la población occidental; en consecuencia, hay una deficiencia en el aporte de ácidos grasos poliinsaturados (AGP) n-3 en su dieta [6]. En la ciudad de Rosario (Santa Fe, Argentina) y según recordatorio de 24 horas, el consumo registrado de pescado resultó inferior al 5% [7] y sólo el 11,4% de quienes consumían pescado, lo hacían de manera semanal [8]. En cambio, al analizar la mesa típica de los argentinos, se encontró que se supera significativamente el consumo recomendado para carne vacuna [9].

Un indicador importante a la hora de planificar una

dieta, es la relación entre los AG n-6 y n-3 [10]. Existe evidencia de la importancia de una relación equilibrada de estos AG en la prevención cardiovascular y de otras enfermedades crónicas; sin embargo, esta evidencia de riesgo se asocia más a un bajo consumo de n-3, un alto consumo de n-6 o una inadecuada relación n-6/n-3, aunque no son claras las recomendaciones dietéticas al respecto [11].

A pesar de la importancia de incorporarlos a la dieta y de la oferta creciente de pescados de río en la región del Paraná y sus afluentes, son escasas las publicaciones sobre su composición nutricional. Tampoco han sido estudiados detalladamente para esta región, los diversos factores ambientales que influyen sobre la composición química de la porción comestible de cada especie ictícola: edad, género, estado de maduración sexual, alimentación disponible, hábitos alimentarios, clima y salinidad del ambiente, entre otros, como se mencionan en estudios que refieren a otros orígenes geográficos [12].

El objetivo de este trabajo fue analizar la calidad nutricional de tres especies de pescado del río Paraná: Boga (*Leporinus obtusidens*), Dorado (*Salminus brasiliensis*) y Surubí (*Pseudoplatystoma coruscans*), con énfasis en su perfil lipídico, para contribuir al conocimiento de la composición de alimentos regionales, que permitan sustentar recomendaciones nutricionales.

Materiales y Métodos

Preparación de las muestras

Se colectaron al azar 5 pescados frescos de cada una de las tres especies. Los pescados fueron adquiridos ya eviscerados, en comercios especializados de la ciudad de Rosario y de la zona costera. Se colocaron en bolsas de polietileno y se trasladaron al laboratorio, en conservadoras aisladas, con hielo. Las piezas fueron lavadas con agua desionizada; se les retiró la piel y la grasa superficial y se procedió a aislar los músculos dorsales y abdominales, que constituyen la denominada “porción comestible” del pescado. Cabeza, cola, piel, huesos y espinas fueron desechadas. El material obtenido se homogeneizó y se almacenó a $-18 \pm 2^\circ \text{C}$, conservando la identidad individual de cada pescado ($n = 15$).

Métodos analíticos

Determinación de humedad

Una porción del material homogeneizado se utilizó para determinar el contenido de humedad antes de su almacenamiento, de acuerdo a IRAM 15010-1 [13], secando la muestra en estufa con circulación de aire caliente, hasta peso constante.

Determinación de lípidos totales

La determinación de grasas totales se llevó a cabo de acuerdo al método propuesto por Folch, Lees y Stanley [14], modificado por AOAC 964.12 [15]. Aproximadamente $1,00 \pm 0,01$ g de muestra (b.s.) se homogeneizó y se puso en contacto con una solución de cloroformo: etanol (2:1), hasta obtener un volumen de 20 ml. La mezcla se agitó por 2 horas a temperatura ambiente en un agitador orbital a 500 rpm; luego se centrifugó y se enjuagó tres veces con una mezcla de cloroformo: etanol (1:1). La fase orgánica se evaporó bajo flujo de nitrógeno gaseoso. El contenido lipídico se calculó gravimétricamente.

Determinación de proteínas

Las proteínas se determinaron de acuerdo a AOAC 981.10 [15] sobre muestras previamente deshidratadas. El contenido de proteína cruda se calculó por conversión del contenido de nitrógeno obtenido por el método de Kjeldahl ($\text{N} \times 6,25$).

Determinación de cenizas

Las cenizas se determinaron según AOAC 938.08 [15], combustionando la muestra a 550°C por espacio de 20 h, en una mufla MR016 (Melisam, Argentina).

Determinación del perfil de AG

Se utilizaron las técnicas de cromatografía gaseosa (CG) ISO 5508-1990 [16] e ISO 5509-2000 [17]. Los AG se estudiaron como ésteres metílicos, que fueron separados por transmetilación con una solución de trifluoruro de boro en metanol, previa saponificación con NaOH 0,5N en metanol. Se utilizó un cromatógrafo gaseoso Hewlett Packard HP-5890 II equipado con detector de ionización de llama (FID) y columna capilar (material de relleno ciano propil metil polisiloxano DB-23 al 50%, de 30m largo y tamaño de partícula igual a $0,25 \mu\text{m}$). La temperatura de la columna fue de 175°C , la del inyector 250°C y la del detector, 300°C . Se usó nitrógeno como carrier, con un caudal de 25 mL/min. Los resultados se expresan como porcentaje relativo de ácidos grasos, los que se identificaron de acuerdo a los tiempos de elución establecidos mediante patrones cromatográficos.

Análisis estadístico

Se presenta la estadística descriptiva de los datos, obtenidos por triplicado para cada muestra individual. Se informan los rangos, la moda, el primer y tercer cuartil en forma gráfica. Las correlaciones de Pearson fueron calculadas utilizando Infostat v. 2017, para describir relaciones entre grasa, humedad, cenizas y proteínas. Las diferencias

significativas entre los contenidos de cada AG se evaluaron mediante ANOVA de un factor, estableciéndose la significancia en $p \leq 0,05$. Los datos obtenidos también fueron analizados mediante estadística multivariada, aplicando la metodología de Análisis por Componentes Principales (PCA), utilizando R-project versión 3.3.3 [18].

Resultados y Discusión

En la Figura 1a. se observa que el contenido de humedad más elevado correspondió a la especie Dorado, donde el 50% de las muestras tuvo un contenido de humedad igual a 76,3 g/100 g o superior; para Boga ese valor correspondió a 72,4 g/100 g y a 71,0 g/100 g para Surubí. El intervalo de variación de este parámetro fue mayor en Surubí (entre 65,6 y 78,2 g/100 g).

La Figura 1b. muestra el contenido de grasas totales de las especies analizadas ($n = 15$). Se observa que el 75% de las muestras correspondientes a Dorado tienen 4,9 g/100 g de grasa o menos; mientras que para Boga, el 75% de las muestras contiene 7,8 g/100 g o más y para Surubí, 8,7 g/100 g o más.

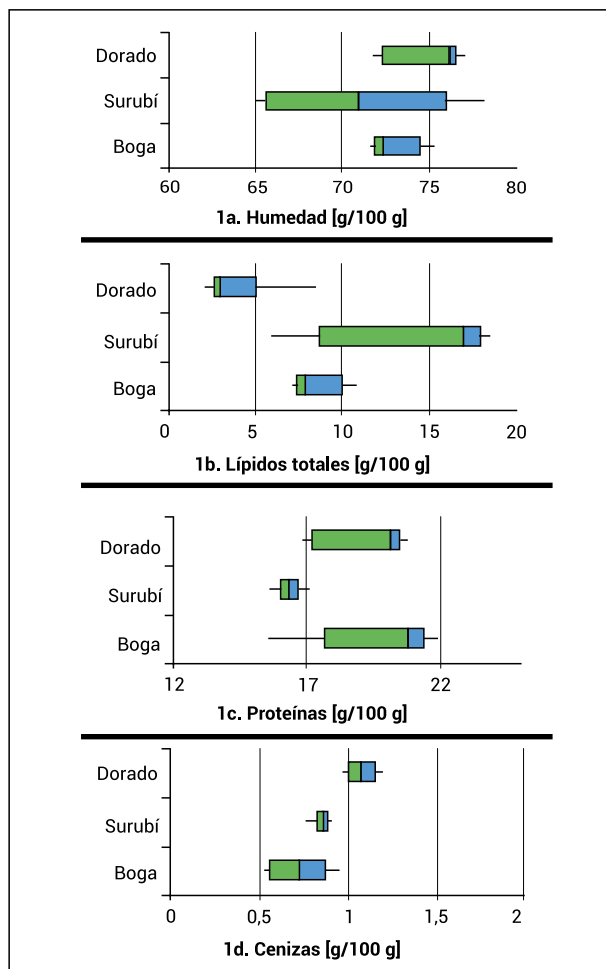


Figura 1: Contenidos de humedad, lípidos totales, proteínas y cenizas de la porción comestible de Dorado, Surubí y Boga del río Paraná (Argentina) ($n = 15$).

Molina y col. [19] analizaron la composición nutricional de la carne de Surubí del río Paraná de la zona Barranqueras, encontrando un contenido de lípidos totales igual a 12,2 g/100 g; mientras que Fontanarrosa y col. [20] informaron un contenido de $12,8 \pm 5,8$ g/100 g para Surubí y de $4,8 \pm 3,3$ g/100 g para Boga, valores inferiores a los encontrados en este estudio para ambas especies. De acuerdo a Villarino Marin y col. [23], por su valor medio de lípidos, Dorado (2,8 g/100 g) puede considerarse como pescado magro, mientras que Boga (8,6 g/100 g) y Surubí, como pescados grasos (16,9 g/100 g).

En coincidencia con el comportamiento observado para la humedad, la especie Surubí muestra el mayor rango de variación para este parámetro. Las grasas totales y la humedad se correlacionaron inversamente para las tres especies (r^2 Dorado = 0,96; r^2 Surubí = 0,89; r^2 Boga = 0,91), en coincidencia con otros estudios [19, 22].

Los lípidos totales de las tres especies de pescado de río no sólo presentaron diferencias entre las especies analizadas, sino también dentro de la misma especie, especialmente para el caso de Surubí. Esta variabilidad puede deberse a la relación de las grasas con factores como la alimentación del pez, la altura del río, la migración y el desove, entre otros [23]. Boga y Surubí son especies migratorias; su desove se produce en la corriente de los ríos en septiembre y febrero, en coincidencia con los picos de creciente que experimenta el sistema hídrico. Dorado habita las fuertes corrientes que se forman en bajos pedregosos o desembocaduras de afluentes, donde su mayor musculatura le permite maniobrar con más facilidad que sus presas, en general otros peces, y atacar cuando éstas están inermes en la corriente. Para la reproducción, remonta la corriente a lo largo de los meses de octubre y noviembre [22, 24]. Dichas características podrían explicar la variabilidad en los datos obtenidos.

La Figura 1c. muestra el contenido de proteínas ($n = 15$). El 75% de las muestras de Dorado tienen un contenido de proteínas mayor o igual a 17,2 g/100 g, para Boga ese valor corresponde a 17,6 g/100 g y para Surubí, a 15,9 g/100 g. El rango de variación del contenido de proteínas en Surubí es inferior al de las otras dos especies analizadas.

El contenido de cenizas de las tres especies estudiadas se muestra en la Figura 1d. ($n = 15$). El 75% de las muestras de Boga y Surubí contienen valores menores o igual a 0,9 g/100 g. En el caso de Dorado, en el 75% de los individuos se observó un contenido de cenizas mayor o igual a 1,0 g/100 g.

Al estudiar el perfil de AG (Tabla 1), se encontró un predominio de ácido oleico (AGM) seguido por ácido palmítico (AGS). Resultados similares han sido informados por otros autores [25, 26].

Tabla 1: Perfil de AG de Surubí, Boga y Dorado del río Paraná (Argentina).

		Dorado		Boga		Surubí	
n = 15		Prom. ± Desv. std.		Prom. ± Desv. std.		Prom. ± Desv. std.	
Caprico	C10:0	0,0 ± 0,0		0,0 ± 0,0		0,0 ± 0,0	
Caprilico	C8:0	0,0 ± 0,0		0,0 ± 0,0		0,0 ± 0,0	
Laurico	C12:0	0,1 ± 0,0		0,0 ± 0,0		0,1 ± 0,1	
Undecanoico	C11:0	0,0 ± 0,0		0,0 ± 0,0		0,1 ± 0,1	
Tridecanoico	C13:0	0,0 ± 0,0		0,0 ± 0,0		0,1 ± 0,1	
Mirístico	C14:0	1,6 ± 0,4		1,6 ± 0,2		2,2 ^a ± 0,3	
Miristoleico	C14:1	0,5 ± 0,1		0,2 ± 0,1		0,6 ± 0,2	
Pentadecanoico	C15:0	0,5 ± 0,1		0,6 ± 0,1		0,9 ± 0,2	
Pentadecoico	C15:1	0,6 ± 0,3		0,3 ± 0,0		0,5 ± 0,1	
Palmitico	C16:0	21,6 ± 1,9		22,8 ± 0,6		26,7 ^a ± 1,5	
Isom.Palmitoleico	C16:1	8,3 ± 2,2		9,5 ± 0,3		12,2 ^a ± 1,9	
Palmitoleico	C16:1	ND		ND		ND	
Margarico	C17:0	0,8 ± 0,2		1,3 ± 0,1		1,4 ± 0,4	
Margaroleico	C17:1	0,8 ± 0,2		0,6 ± 0,0		1,3 ± 0,2	
Estearico	C18:0	8,9 ± 0,4		8,6 ± 0,2		8,2 ± 0,8	
Oleico	C18:1n9c	30,1 ± 5,6		41,2 ^a ± 1,4		29,0 ± 4,5	
Isomero Oleico	C18:1n9t	0,1 ± 0,0		0,7 ^a ± 1,6		0,1 ± 0,1	
Isomero linoleico	C18:2n6t	0,1 ± 0,0		ND		ND	
Linoleico	C18:2n6c	13,5 ^a ± 7,6		3,0 ± 0,4		4,4 ± 1,9	
Nonadecanoico	C19:0	ND		0,2 ± 0,0		0,3 ± 0,3	
Isomerolinolenico	C18:3n6	0,3 ± 0,1		ND		ND	
Linolenico	C18:3n3	1,9 ± 0,3		1,8 ± 0,0		2,9 ^a ± 0,5	
Araquídico	C20:0	0,2 ± 0,0		0,2 ± 0,1		0,1 ± 0,1	
Gadoleico	C20:1n9c	1,5 ± 0,4		2,0 ± 0,1		2,0 ± 0,4	
Eicosadienoico	C20:2	0,9 ± 0,2		0,6 ± 0,1		0,7 ± 0,1	
Eicosapentaenoico	C20:5n3	1,1 ± 0,3		0,3 ^a ± 0,0		0,8 ± 0,1	
Araquídónico	C20:4n6	2,4 ± 0,8		2,5 ± 0,1		2,9 ± 0,6	
Behemico	C22:0	0,0 ± 0,0		0,0 ± 0,0		0,0 ± 0,1	
Docosahexaenoico	C22:6n3	4,3 ^a ± 2,2		1,9 ± 0,1		2,5 ± 0,5	
Total		100,00		100,00		100,00	

ND: no detectable (límite de detección >0.1%)
Para la misma línea, los valores afectados con el supra-índice (a) son significativamente diferentes (p = 0,05).

Se observa que los AGS presentes en mayor cantidad fueron el ácido palmítico y el ácido esteárico. Los AG monoinsaturados (AGM) estuvieron representados por el ácido oleico. Entre los AGP se encontraron los AG esenciales linoleico y alfa-linolénico y entre los AG de cadenas más largas, araquídónico, EPA y DHA. Dentro de los AG n-6, en las tres especies analizadas predominó el ácido linoleico, que fue mayor en Dorado. Para la serie n-3, el ácido linolénico predominó en Surubí y el DHA y el EPA en Dorado. La Boga se diferenció por su contenido en ácido oleico.

La Tabla 2 reúne los valores totales correspondientes a los contenidos de AGS, AGM y AGP de las tres especies de pescado estudiadas. En todos los casos se observó un predominio de grasas insaturadas, particularmente los AGM,

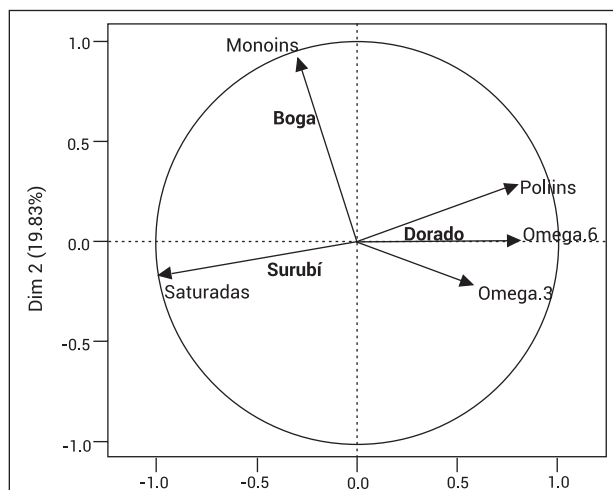
a diferencia de lo informado para seis especies de pescados marinos consumidas en México, en las que predominaron los AGP y AGS (12).

Tabla 2: Contenido medio porcentual de AGS, AGM y AGP de Surubí, Boga y Dorado del río Paraná (Argentina) y sus relaciones.

Grasas	Surubí (%)		Boga (%)		Dorado (%)	
	Promedio	Desv. std.	Promedio	Desv. std.	Promedio	Desv. std.
Saturadas	40,1 ^a	3,9	35,4	1,3	33,9	3,0
Monoinsaturadas	45,6 ^b	7,4	54,5 ^c	3,4	41,7 ^a	8,7
Poliinsaturadas	14,2	3,6	10,1	0,8	24,4 ^a	11,4
Total insaturadas	59,9 ^a	10,9	65,6	4,2	66,1	20,2
Saturadas/insaturadas	0,7		0,5		0,5	
AG-n-6	8,0	2,55	6,1	0,7	16,3 ^a	8,5
AG-n-3	6,2	0,7	4 ^a	0,1	7,2	2,7
n-6/n-3	1,3 ^a		1,5 ^b		2,3 ^c	

Para la misma línea, los valores afectados con el supra-índice (a, b o c) son significativamente diferentes (p<0,05).

El contenido de AGM fue significativamente superior para Boga (Figura 2). Datos similares fueron hallados en un estudio realizado sobre diferentes especies de pescados del río Paraná, donde se encontró para Boga un valor máximo del 51 g/100 g y para Surubí de 36 g/100 g (27). El contenido de AGS varió entre 33,9 y 40,1 g/100g, predominando el ácido palmítico en las tres especies. La relación AGS/AGI coincidió con lo informado en otros estudios (25, 26) y alcanzó valores que resultan beneficiosos para la salud.

**Figura 2:** Análisis por Componentes Principales para el contenido de AGS, AGM y AGP de Surubí, Boga y Dorado del río Paraná (Argentina).

La Figura 2 muestra los resultados del Análisis por Componentes Principales, realizado a partir de los datos de la Tabla 2. Se puede observar que la primera dimensión explica el 54,7% de las diferencias y discrimina a la especie Dorado de las otras, asociándolo con su contenido de AGP (n-3 y n-6). La segunda dimensión explica el 19,8% de las diferencias y discrimina a la especie Boga, asociada a mayores contenidos de AGM.

En la Tabla 2 puede observarse que las tres especies aportan cantidades superiores de AG-n-6 que de AG-n-3,

diferenciándose de lo informado para pescados marinos [12]. Esta diferencia podría atribuirse, entre otros factores, a que la salinidad del ambiente desempeña un papel importante en el perfil de AG [12].

FAO/OMS recomiendan que el aporte de los AGP n-6 en la dieta se encuentre entre el 5 y el 8% de la ingesta energética diaria, mientras que el correspondiente a los AGP n-3, debe ser del 1 al 2% [11]. De acuerdo a estos criterios, la relación n-6/n-3 encontrada en las especies analizadas es menor a la óptima (Tabla 2). Estudios realizados en pescados de río [11, 28], afirman que los mismos tienen una relación n-6/n-3 mucho más equilibrada que los de mar, aunque estos últimos contribuyen con mayores aportes de EPA y DHA [28]. Sin embargo, en los objetivos nutricionales establecidos recientemente [11], se indicó que no era conveniente reducir el aporte de ácidos grasos n-6, tratando de evitar un desequilibrio en la proporción n-6/n-3, siendo más conveniente incrementar el aporte de ácidos grasos n-3 [29].

Tabla 3: Contenido de EPA Y DHA en 100 g de porción comestible de Surubí, Boga y Dorado del río Paraná (Argentina).

	Surubí	Boga	Dorado
	mg/100 g	mg/100 g	mg/100 g
EPA	130,1 ^a	30,1	30,2
DHA	427,6 ^a	159,9	120,7
Para la misma línea, los valores afectados con el supra-índice (a, b o c) son significativamente diferentes (p<0,05).			

La Tabla 3 muestra los contenidos de EPA y DHA para 100 g de porción comestible de pescado, considerando los diferentes contenidos de grasas totales de las tres especies estudiadas. Puede observarse que el contenido de DHA de las especies analizadas superó al de EPA; lo que resulta beneficioso ya que el DHA puede ser reconvertido a EPA; en cambio, cuando se administraron suplementos dietarios de EPA, no se obtuvieron incrementos en los niveles de DHA en sangre ni en tejidos [28].

La evidencia disponible del beneficio del consumo de EPA y DHA, indica que se debe considerar una ingesta mínima diaria de 250 mg, aceptando que las concentraciones de EPA y DHA en sangre sólo se pueden aumentar de manera efectiva por el consumo de fuentes marinas [5]. FAO/OMS [11] recomienda una ingesta de 200 mg por día para las mujeres embarazadas o en el período de lactancia y de 10 a 12 mg/kg/día para bebés de hasta dos años.

Acuña Reyes [30] concluyó que los lípidos aportados por todas las especies de pescado, tanto los de agua dulce como salada, son sustancialmente menores que las aportadas por carnes de especies terrestres. Las tres especies analizadas superaron en contenido graso al pollo y a algunos cortes de cordero, cerdo y vaca, de acuerdo a la composición informada en las Tablas de Composición Química de Alimentos Argenfoods 2010 [31], para estos últimos. Sin embargo, las tres especies aportan AGI a la dieta, con demostrados beneficios para la salud, y contienen menor cantidad de AGS y de colesterol que el resto de las carnes [30, 31].

Conclusiones

Desde el punto de vista nutricional, teniendo en cuenta el aporte en AGI, especialmente AG-n-3 y AG-n-6, y tratándose de un recurso natural de la zona, Boga, Dorado y Surubí pueden considerarse como alimentos recomendables para ser incorporados a la dieta habitual.

Los valores informados en este trabajo pueden variar según los diferentes ecosistemas en los que se desarrollan las especies consideradas. Estudios como este constituyen un punto de partida para futuras investigaciones, que habrán de continuarse.

Fuentes de Financiación: las autoras agradecen a la Universidad del Centro Educativo Latinoamericano UCEL la financiación del Proyecto ALI 136: *Análisis del consumo y del perfil lipídico de pescados del río Paraná con énfasis en sus ácidos grasos insaturados en comparación con pescados marinos y otro tipo de carnes*

Bibliografía

1. **Torresani, M.E. y Somoza, M.I.** *Cuidado nutricional Cardio-metabólico*. Capítulo 1 Epidemiología de enfermedades crónicas no transmisibles. 1^o Edición. Buenos Aires, Akadia. p. 2-3. 2011.
2. **Ministerio de Salud de la Nación.** *Guías Alimentarias para la Población Argentina*, Buenos Aires. 2016. Disponible en: <http://www.msal.gov.ar/ent/index.php/informacion-para-ciudadanos/menos-sal--vida/482-mensajes-y-grafica-de-las-guias-alimentarias-para-la-poblacion-argentina>. Fecha de consulta: marzo 2018.
3. **Kris-Etherton, P. y Yu, S.** *Individual fatty acids on plasma lipids and lipoproteins: human studies*. Am. J. Clin. Nutr. 65: p. 1628S - 44S. 1997.
4. **Ministerio de Salud de Chile.** *Resumen de la evidencia disponible del beneficio de ácidos grasos EPA y DHA para determinar un valor referencial recomendado para su ingesta*. 2015. Disponible en: <http://www.iffonet.es/system/files/A4RevisionChileespañol.pdf> Fecha de consulta: febrero 2018.
5. **IADSA. The Marine Ingredients Organization.** *La evaluación científica de los beneficios de EPA y DHA por IADSA*. 2015. Disponible en: <http://www.iffonet.es/system/files/A%205%20Revisi%C3%B3n%20IADSA%20espa%C3%B1ol%20Marzo%202015.pdf>. Fecha de consulta: febrero 2018.
6. **Valenzuela, A.** *El salmón: un banquete de salud*. Revista Chilena de Nutrición, 32(1): p. 8-17. 2005.
7. **Zapata, M.E.** *Primer estudio sobre el estado nutricional y los hábitos alimentarios de la población adulta de Rosario*. 1^a Edición. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: La Imprenta Digital. p. 150. 2014.
8. **Cabreriso, M.S., Chaín, P.N., Gatti, M.B., Bosco, E., Pellegrini, D., Manin, M. y Ciappini, M.C.** *Evaluación del consumo de pes-*

- cado de río en adultos de la ciudad de Rosario*. Libro de Trabajos Completos, Área de Nutrición y Salud, VI Congreso de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, p. 134-140. CICYTAC. Buenos Aires. 2016.
9. Britos, S., Saraví, A., Chichizola, N. y Vilella, F. *Hacia una alimentación saludable en la mesa de los argentinos*. 1ª Edición. Orientación Gráfica Editora. Buenos Aires. p. 21-39. 2012.
 10. Carrero, J.J., Martín-Bautista, E., Baró, L., Fonollá, J., Jiménez, J., Boza, J.J. y López-Huertas, E. *Efectos cardiovasculares de los ácidos grasos Omega-3 y alternativas para incrementar su ingesta*. Nutrición Hospitalaria, 20(1): p. 63-69. 2005.
 11. FAO/OMS. *Fats and fatty acids in human nutrition: report of an expert consultation*. FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Food Nutr. 91: p. 15 - 16. 2010.
 12. Castro González, M.I., Maafs Rodríguez, A.G. y Galindo Gómez, C. *Perfil de ácidos grasos de diversas especies de pescados consumidos en México*. Rev. Biol. Trop. 61(4): p. 1981-1998. 2013.
 13. IRAM 15010-1. *Productos de la Industria Pesquera. Método de determinación de humedad por la técnica de la estufa de aire*. Instituto Argentino de Normalización y Certificación. Buenos Aires, Argentina. 1985.
 14. Folch, J., Lees, M. y Stanley, G.H. *A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues*. J.Biol. Chem, 5: p. 497 - 509. 1957.
 15. Official Method of AOAC International. 19th Edition. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, USA. 2012.
 16. ISO 5508. *Animal and vegetable fats and oils. Analysis by gas chromatography of methyl esters of fatty acids*. International Standard Organization, Ginebra, Suiza. 1990.
 17. ISO 5509. *Animal and vegetable fats and oils. Preparation of methyl esters of fatty acids*. International Standard Organization, Ginebra, Suiza. 2000.
 18. Abdi, H., Williams I.J., Valentin D. y Bennani Dosse, M. *Statis and Distatis: optimum multi table principal component analysis and three way metric multidimensional scaling*. Wiley Interdisciplinary Review: Computational Statistics, 4, p. 124-167. 2012.
 19. Molina, M.R., Garro, O.A. y Judis, M.A. *Composición y calidad microbiológica de la carne de Surubí*. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Universidad Nacional del Nordeste, Argentina. 2000.
 20. Fontanarrosa, M.E., Espíndola, B. y Del Barco, D. *Estudio de los cambios producidos por cuatro diferentes formas de cocción sobre el contenido de macronutrientes de siete especies de pescados del Río Paraná*. FACIBIB, 8: p. 183-191. 2004.
 21. Villarino Marin, A.L., Moreno Posada, P. y Soriano I. *Valor nutritivo del pescado. Servicio de Promoción de la Salud*. Instituto de Salud Pública. Dirección General de Salud Pública, Alimentación y Consumo. Consejería de Sanidad y Consumo. Nueva Imprenta, Madrid, España, p. 55-56. 2005.
 22. Abib, M., Freyre, M., Palmioli, N., Del Barco, D. y Ferraris, N. *Contenido en colesterol en porción comestible de peces del valle aluvial del Río Paraná*. FACIBIB, 9: p. 111-114. 2005.
 23. Bogard, J., Thilsted, S., Marks, G., Wahab, A., Hossain, M., Jakobsen, J. y Stangoulis, J. *Nutrient composition of important fish species in Bangladesh and potential contribution to recommended nutrients intake*, Journal of Food Composition and Analysis 42: p. 120-133. 2015.
 24. Quirós, R. *The Paraná River Basin development and the changes in the lower basin fisheries*. Interciência, 15 (6). p. 442-451. 1990.
 25. Espíndola, B. *Variaciones en el contenido de macro y micronutrientes en pescados de ríos sometidos a cuatro formas de cocción*. Universidad Nacional del Litoral (Tesis de Maestría). 2008. Disponible en <http://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8080/tesis/bitstream/handle/11185/465/tesis.pdf?sequence=1&isAllowed=y018>. Consultado: Marzo 2018.
 26. Abib, M., Freyre, M., Fontanarrosa, M.E., Del Barco, D. y Ferraris, N. *Calidad nutricional de las grasas de pescados del río Paraná de consumo masivo en Santa Fe*. FACIBIB, 7: p. 127-133. 2003.
 27. Brenner, R. y Bernasconi, A. *Aporte de ácidos grasos esenciales de las series n-6 y n-3 a la dieta humana por pescados comestibles del Río Paraná*. Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata (INIBIOLP), Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional La Plata. Buenos Aires. 57: p. 307-314. 1997.
 28. Piñeiro Corrales, G., Lago Rivero, N., Olivera Fernández, R. y Culebra Fernandez, J. *Análisis del perfil lipídico de dos especies de merluza "Merluccius capensis y Merluccius paradoxus" y su aportación a la prevención de enfermedades cardiovasculares*. Nutr Hosp. 28(1): p. 63-70. 2013.
 29. Deckelbaum, R.J. y Calder, P.C. *Dietary n-3 and n-6 fatty acids: are there 'bad' polyunsaturated fatty acids?* Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care 13: p. 123-4. 2010.
 30. Acuña Reyes, M.J. *Peces de Cultivo, Composición, Comparación con Carnes de Consumo Habitual: Ventajas del Consumo de Pescados*. Diaeta, 31(143): 26-30. 2013.
 31. Argenfoods. *Tabla de Composición Química de los Alimentos*. Universidad de Luján. Argentina. 2010. Disponible en: <http://www.argenfoods.unlu.edu.ar/Tablas/Grupo/Carnes AG.pdf>. Fecha de consulta: Marzo 2018.

Recibido: 10/08/2018.

Aprobado: 18/12/2018.

RECYT

Año 21 / Nº 32 / 2019 / 39–47

La rastreabilidad de la medición del paciente en el hospital con la tecnología RFID

The traceability of patient medication in the hospital with RFID technology

A rastreabilidade da medicação do paciente no hospital com a tecnologia RFID

Victor Nassar^{1,*}, Milton Vieira¹

1- Universidade Federal de Santa Catarina. DesignLab, CCE, UFSC. R. Eng. Agrônomo
Andrei C. Ferreira, s/n - Trindade, 88040-900. Florianópolis-SC, Brasil.

* E-mail: victornassar@gmail.com

Resumen

Las fallas de información en hospitales pueden ocasionar errores en la identificación de pacientes y en la administración de medicamentos. La rastreabilidad ejecutada por la tecnología de comunicación inalámbrica RFID (Radio Frequency Identification) puede ayudar con el control electrónico de datos, generando información precisa de las actividades. Este artículo discute una aplicación de la trazabilidad en el ambiente hospitalario, utilizando la tecnología RFID para establecer el control de la información en la administración medicamentosa, evitando que se dicten medicamentos diferentes de los prescritos o que sean enviados al paciente equivocado.

Palabras clave: Gestión del Hospital, Rastreabilidad, Tecnología de la Información, RFID.

Abstract

Failures of information in hospitals can lead to errors in patient identification and medication administration. Traceability performed by RFID (Radio Frequency Identification) technology can aid in electronic data control, generating accurate information on activities. This article discusses an application of traceability in the hospital environment, using RFID technology to establish control of information in medication administration, avoiding the delivery of medications other than those prescribed or sent to the wrong patient.

Keywords: Hospital Management, Traceability, Information Technology, RFID.

Resumo

Falhas de informação em hospitais podem ocasionar erros na identificação de pacientes e na administração de medicamentos. A rastreabilidade executada pela tecnologia de comunicação sem fio RFID (Radio Frequency Identification) pode auxiliar com o controle eletrônico de dados, gerando informação precisa das atividades. Este artigo discute uma aplicação da rastreabilidade no ambiente hospitalar, utilizando a tecnologia RFID para estabelecer o controle da informação na administração medicamentosa, evitando que sejam ministrados medicamentos diferentes dos prescritos ou que sejam enviados ao paciente errado.

Keywords: Gestão Hospitalar, Rastreabilidade, Tecnologia da Informação, RFID.

Introdução

A segurança da saúde dos pacientes em hospitais é uma questão a ser analisada com profundidade na sociedade. Ainda que internadas, pessoas sofrem danos com erros médicos, ocasionados por falhas de informação, como erros na identificação de pacientes, na administração de medicamentos e em procedimentos hospitalares. Estes erros podem provocar incidentes que resultam em complicações para a saúde e dificultam a reabilitação dos pacientes (Dedefo, Mitike & Angamo, 2016; BerdoT *et al.*, 2013).

Um erro de identificação do paciente pode resultar em trocas no recebimento de bolsas de sangue, na transfusão de hemoderivados, na nutrição e na realização de procedimentos que não são destinados a esse paciente. Já os erros que ocorrem na administração dos medicamentos estão relacionadas a equívocos na dosagem e nos horários prescritos, à troca de medicamentos com aparência ou nomes similares e à falta de aplicação que causam danos à saúde da pessoa que já se encontra debilitada (Patel *et al.*, 2016; American Society of Health-System Pharmacists & American Pharmacists Association, 2013). A partir de

estudos realizados em hospitais do Brasil e de diferentes países, observa-se a recorrência de relatos dos erros de medicação relacionados a horário errado, omissão, erro na dosagem, aplicação de medicamento sem autorização e medicamento errado (Dedefo, Mitike & Angamo, 2016; Patel *et al.*, 2016; Berdot *et al.*, 2013; Miasso *et al.*, 2006; Barker *et al.*, 2002).

A possibilidade de errar é inerente ao ser humano e, por isso, é necessário estabelecer mecanismos de segurança no sistema de saúde, a fim de minimizar as falhas de informação. A questão da segurança dos pacientes deve ser tratada como uma responsabilidade ética e legal para os hospitais (Zambelli, 2004). Assim, a aplicação de tecnologias de informação para auxiliar o gerenciamento de processos pode possibilitar um avanço de controle e coordenação das atividades (Bowersox e Closs, 2009).

Nesse contexto, a rastreabilidade passa a ser então um caminho para que as indústrias e organizações de saúde implementem sistemas de gerenciamento, propiciando a eficiência em suas operações, valor ao consumidor e a permanecerem competitivas no mercado. Dessa forma, tem-se a importância de sistemas que garantam a rastreabilidade de dados de materiais, insumos e medicamentos, bem como a identificação dos pacientes aos quais são ministrados, e dos profissionais que os prescrevem (Carayon, 2010).

A tecnologia de informação *Radio Frequency Identification* (RFID - Identificação por radiofrequência) vem sendo utilizada no desenvolvimento de soluções para a área da saúde, além de setores em que sua aplicação já é consolidada, como na automação dos processos de logística, controle e de circulação de mercadorias (Meyer, Roest & Szirbik, 2010). As principais áreas beneficiadas por meio da rastreabilidade com RFID em hospitais são o monitoramento de equipamentos e controle de ativos (Oranje-Nassau *et al.*, 2009).

Diante deste cenário, este artigo pretende abordar o problema da administração errada de medicamentos aos pacientes ocasionada por falhas de informação, explorando a sua relação com a tecnologia RFID. Para tanto, tem-se como objetivo discutir uma proposta de aplicação que utiliza a rastreabilidade no ambiente hospitalar, com uso da tecnologia RFID para a verificação da medicação correta que será enviada ao paciente. Com isso, pode-se analisar a função da rastreabilidade hospitalar efetuada com RFID enquanto elemento capaz de proporcionar a segurança da saúde do paciente, discutindo formas de integração e de monitoramento de ações.

A rastreabilidade hospitalar com o uso de tecnologias de informação

Para a gestão de informações de um hospital, assim como para sistemas logísticos em geral, encontram-se diferentes obstáculos envolvidos em sua execução, como

erros em relatórios, dificuldades em determinar os momentos exatos em que um evento ocorre, falta de precisão na troca de informações, dados que não refletem corretamente uma situação, entre outros. São erros que ocasionam planejamentos desenvolvidos sem a eficiência máxima que poderiam ter, podendo assim comprometer o desempenho do processo (Meyer, Roest & Szirbik, 2010).

Para tanto, o desenvolvimento tecnológico atua como um fator determinante para o compartilhamento de informações. Assim, considera-se a mobilização do conhecimento como um recurso estratégico para a gestão de informações de uma organização, utilizando modelos que permitam uma avaliação em tempo real (Souza, Lima & Costa, 2008). No setor hospitalar, esta situação não é diferente. O crescimento de atividades baseadas em telemedicina, pedidos de informações consistentes e acessíveis para atividades de pesquisa e aprimoramento do tratamento de pacientes criam no setor de saúde grande demanda por recursos tecnológicos, que, se adequadamente gerenciados, aprimoram a qualidade dos serviços de saúde prestados à população (Bueno *et al.*, 2010).

Desse modo, tem-se a adoção de TI no setor de saúde como aliada na atuação da gestão do hospital. Contudo, para que a aplicação objetive ênfase de qualidade, determinados fatores podem precisar de prudências na execução dos projetos. Helms, Moore & Ahmadi (2008) identificaram dificuldades como a falta de integração entre os sistemas, a demora para adoção de tecnologias de informação, além da tradicional resistência ao uso de novas tecnologias como as principais fraquezas do setor. Alcançada a excelência na aplicação, ressalta-se o valor das tecnologias de informação para a melhoria da gestão hospitalar, contribuindo para o desenvolvimento das atividades dos profissionais de saúde e funcionários do hospital (Kirigia *et al.*, 2005). Laudon & Laudon (2009) destacam que a adoção da TI possibilita promover os seguintes benefícios: redução de erros em diagnósticos e prescrições, aperfeiçoamento do treinamento e educação dos profissionais de assistência médica, ampliação do atendimento médico em localidades remotas, informações sobre assistências médicas mais acessíveis aos consumidores.

No ambiente hospitalar, a gestão de processos é o instrumento que orienta a rastreabilidade, buscando o alcance de bons resultados, melhorando o desempenho de uma organização prestadora do serviço com base na definição, análise e gerenciamento dos processos envolvidos. Nesse sentido, tem-se a aplicação da rastreabilidade como um elemento crucial para o controle e monitoramento das informações, para que se possa ter a capacidade de recuperar o histórico das ações em um sistema (ISO 9000:200, 2013).

Uma proposta de rastreabilidade para uma gestão de informações de um hospital deve contemplar os seguintes elementos: a definição dos agentes do sistema de rastreabilidade e das informações necessárias; o estabelecimento dos fluxos de informações e bases de dados; a definição

dos meios humanos, técnicos, de informações e financeiros necessários para implementação; a proposição de arranjos institucionais adequados para a implementação e para o controle do sistema de rastreabilidade. Cabe ressaltar a importância de orientar os sistemas de informação aos métodos dos fatores humanos e ergonômicos para analisar as aplicações a serem utilizadas nas organizações de saúde, sejam em sistemas de automação, prontuário eletrônico ou quaisquer outros tipos de tecnologias de informação que estejam envolvidas na gestão (Carayon, 2010).

Em um estudo realizado por Rodrigues, Xavier & Adriano (2001) foi desenvolvido um módulo básico de um sistema de gerenciamento de dados de pacientes, com as possibilidades de interligação com outros módulos. Esta aplicação computacional tem as seguintes funções: Identificar ou verificar pacientes por meio de um índice criado no processo de registro, que possa ser mantido por qualquer unidade de assistência médica, sendo uma subfunção do registro; Manter o arquivo de registro e dados demográficos como um nó comum para o sistema de arquivo médico que possa ser utilizado por outros sistemas; Estabelecer o registro inicial de entrada de dados dos pacientes mediante a criação do segmento de dados demográficos; Acompanhar a movimentação do paciente dentro do hospital; Produzir o censo de pacientes e relatórios estatísticos; Oferecer aos outros departamentos do hospital informações comuns sobre cada paciente registrado; Criar relatórios administrativos sobre a taxa de ocupação e média de permanência do hospital; Identificar os médicos de cada paciente; Elaborar lista de altas hospitalares de interesse dos setores de admissão do serviço de arquivo médico, farmácia e outros departamentos.

Atualmente, observam-se algumas tecnologias utilizadas para efetuar a rastreabilidade. Entre elas: RFID (*Radio Frequency Identification*), código de barras, códigos *Quick Response (QR-Codes)* e os sistemas computacionais de rastreabilidade. Como objeto deste estudo, analisa-se especificamente a aplicação da tecnologia RFID em hospitais.

A aplicação da tecnologia RFID em ambientes hospitalares

A tecnologia RFID é um dos componentes que pode auxiliar na aplicação da rastreabilidade, ao participar do controle e monitoramento de dados. Define-se a RFID como uma rede de comunicação à distância sem fio, com alcance variável em metros, dependendo da frequência utilizada. A tecnologia pode ser utilizada com o objetivo de identificação ou rastreamento de objetos e possui aplicações no setor logístico, de supermercados, transporte, cargas, entre outros. Para que ocorra a comunicação, é necessário que o objeto possua o chip RFID (*tag*), então uma grande quantidade de dados podem ser capturados pelo leitor instantaneamente, inclusive com os objetos

em movimento e sem necessidade de contato ou visão. Um software é responsável pela conversão dos dados em informações significativas. Desse modo, a tecnologia pode ser utilizada para a identificação de produtos, localização, data e horário, acesso, entre outros (Sun, 2012; Chao, Yang & Jen, 2007).

Dentre as possibilidades de aplicações para as *tags* RFID, pode-se integrar o *chip* em diversos objetos, como pulseiras, chaveiros, etiquetas, cartazes e cartões, além de também estar presente em equipamentos eletrônicos. Os chips podem possuir fonte de alimentação para ser capaz de enviar dados a um leitor por conta própria (modo ativo) ou funcionar sem bateria (modo passivo), com a corrente fornecida por um leitor (Duroc & Kaddor, 2012; Soares *et al.*, 2008).

Com a utilização de RFID, pode-se melhorar a eficiência das operações no que se refere ao controle os processos. Assim, a rastreabilidade de elementos realizada pela tecnologia é um dos integrantes aplicados em sistemas de informação que pode atuar a fim de fornecer subsídios para melhor análise, gestão de riscos e controle de dados em um hospital. Diferentes formas de aplicações de RFID podem entregar redução de custos e de trabalho e melhorar o atendimento, além de realizar a integração dos dados por meio de diferentes sistemas (Roberti, 2014)

Embora existam casos em que a utilização do RFID pode ser substituída sem maiores contratempos por alternativas como os códigos de barras, há uma série de diferenças que devem ser ressaltadas. Tem-se que código de barras só comporta uma leitura por vez no sistema e necessita de contato visual, apresentando dificuldade de leitura no caso de barreiras físicas, como objetos obstruindo a detecção do raio infravermelho. Além disso, como os códigos de barras muitas vezes são impressos em materiais plásticos ou de papel, caso tenham partes que estejam dobradas ou amassadas, pode-se ter dificuldades de leitura. Da mesma forma, com o tempo, o código pode também apresentar desgaste físico da tinta com a qual foi impresso (Dias, 2009). Um dos principais pontos para a aplicação do RFID é a possibilidade de realização de leitura sem a necessidade de contato ou visualização direta entre o leitor e o produto. Da mesma forma, a leitura do RFID também pode ser realizada em ambientes sem nenhuma iluminação e com a possibilidade de realizar múltiplas leituras de *tags* RFID ao mesmo tempo, o que representa maior otimização do tempo de inventário (Freiberger & Bezerra, 2010).

Desse modo, a tecnologia RFID pode ser utilizada para a identificação de elementos, localização de pessoas e equipamentos, controle de acesso, histórico automatizado de informações como data e horário, entre outros. Um sistema de informações de um hospital que aplique a rastreabilidade efetuada com RFID pode oferecer condições para melhorar a sua gestão, com o uso de ferramentas que auxiliam a produtividade dos funcionários e o atendimento aos pacientes, oferecendo valor às atividades da organi-

zação e, consequentemente, aumentando o desempenho na gestão (Oranje-Nassau *et al.*, 2009).

De acordo com Roberti (2014), Michael McDonald, chefe de Engenharia Biomédica do *Veterans Integrated Service Networks* (VISN) – pertencente à *Veterans Administration*, localizado nos Estados Unidos da América (EUA) – as maiores motivações para a aplicação de RFID no hospital foram as dificuldades da equipe de profissionais no momento de localizar equipamentos, referenciando o lançamento da maior implantação da tecnologia RFID já vista até o ano de 2012. Esta implantação foi um divisor de águas para os hospitais. Com base no nível de avaliação dos testes realizados, bem como a abordagem de negócios que estão tomando, acredita-se que foi um sucesso para o futuro da tecnologia na área.

A aplicação de RFID ainda encontra destaque na inserção de etiquetas a lotes de insumos hospitalares, como luvas, seringas ou gases, para controle de estocagem. Assim, conforme indicado por Tajima (2007), tem-se um controle de armazenagem dos materiais disponíveis e menos erros de previsão de demanda. Da mesma forma, como apontam Meyer, Roest & Szirbik (2010), evita-se que haja erros de relatórios, demora no repasse das informações e dados que não são coincidentes com o panorama correto.

Portanto, tem-se que um sistema de informações de um hospital que aplique a rastreabilidade pode oferecer condições para melhorar a sua gestão, com o uso de ferramentas que auxiliam a produtividade dos funcionários e o atendimento aos pacientes, oferecendo valor às atividades da organização e, consequentemente, aumentando o desempenho na gestão (Smithson & Hirschheim, 1998).

Proposta de controle da medicação em hospitais

O delineamento da pesquisa é baseado nos conceitos de Carayon (2010) para a aplicação de uma proposta de rastreabilidade para uma gestão de informações de um hospital. Para tanto, considerou-se a definição dos agentes que irão compor o sistema de rastreabilidade, os fluxos de informações e bases de dados, as necessidades para o controle, os meios humanos, técnicos e tecnológicos.

Considerou-se a jornada do paciente em um hospital até receber a medicação, que inicia com a identificação deste paciente, o atendimento do médico e a definição do prontuário, prosseguindo com a internação do paciente no hospital, aguardando a medicação, nutrição, exames ou outros procedimentos médicos. Analisou-se a jornada com o objetivo de verificar como o RFID estaria inserido no processo, seja com leitores fixos e móveis, pulseiras, cartões de identificação ou etiquetas, que deviam estar vinculados ao ambiente, paciente, objetos, medicamentos e demais elementos participantes em cada momento. Procurou-se determinar as características de cada passo,

com as barreiras encontradas para o monitoramento e controle de dados.

Após estudo sobre os momentos de um paciente em um hospital, com a respectiva análise de cada fase, foi desenvolvido o processo de rastreabilidade da medicação efetuada com RFID. Assim, a etapa consiste na elaboração de estratégia de coleta dos dados, com a seleção de equipamentos que melhor se adequam a cada momento e os procedimentos a serem adotados, a fim de garantir a eficiência no monitoramento e precisão no controle de informações relativas ao que foi prescrito ao paciente e aos processos internos da gestão hospitalar.

Discute-se a seguir o processo de rastreabilidade da medicação com a tecnologia RFID. Assim, tem-se as etapas: 5.1 Identificação dos agentes do sistema, com os elementos a serem monitorados; e 5.2 Rastreabilidade com RFID no Hospital, com o processo específico de monitoramento e controle da medicação do paciente.

Aplicação da rastreabilidade

Identificação dos agentes do sistema

Para cada um dos agentes do sistema foram analisadas as necessidades correspondentes, a fim de poder definir o tipo de *tag* RFID que melhor poderia ser utilizada. Para tanto, foi considerado o fluxo de movimentação no hospital, para que se possa estabelecer posteriormente os processos automatizados. Para todos os agentes, foi utilizada a frequência UHF, pois se busca adotar o alcance de leitura regulável a longas distâncias. Em relação aos elementos do sistema integrados com RFID, definiu-se o processo para: Pacientes, Frascos de Medicamentos, Recipientes de Medicamentos, Antena e Leitor RFID.

Paciente

Os pacientes devem poder ser monitorados em seus leitos, no quarto ou na enfermaria, para que se possa desenvolver o controle na administração dos medicamentos. Com isso, definiu-se a utilização de uma pulseira de silicone com *tag* RFID, a fim de poder substituir as tradicionais pulseiras de identificação em papel. Foram realizados testes de leitura RFID entre a pulseira e antena, verificando que a possibilidade de leitura acima de 2 metros de distância, para que haja a detecção do paciente no próprio leito. A pulseira utilizada possui cerdas de 1cm em sua superfície, garantindo um isolamento entre o *chip* e o corpo, evitando uma possível interferência de leitura que poderia ocorrer.

Frascos de Medicamentos

Objetiva-se estabelecer o controle de cadastro da medicação que os pacientes devem receber, permitindo apenas

o que está na prescrição médica. Com isso, definiu-se a utilização de *tags* RFID adesivas para serem colocadas aos frascos de medicamentos presentes no setor de preparo da medicação do posto de enfermagem do hospital. Os testes indicaram que as *tags* apresentaram leitura a curta distância e acima de 2 metros, de acordo com a configuração da antena, o que torna o modelo eficaz para a utilização em cadastros e para confirmação de dados no leito do paciente.

Recipiente de Medicamentos

A fim de efetuar o processo com RFID para controle da administração de medicamentos, foi necessário incluir um recipiente que fosse capaz de realizar o monitoramento RFID nos leitos dos pacientes. Para tanto, definiu-se a utilização da *tag* RFID adesiva, que deve ser anexada ao recipiente de medicamentos que será enviado ao paciente, definido como um invólucro plástico transparente com fechamento (Figura 1). Este tipo de embalagem já é utilizada em determinados hospitais e permite aplicação de etiqueta com o nome e código do paciente. O recipiente plástico permite ainda o lacre do medicamento, evitando violação antes de chegar até ao paciente. Além disso, também pode ser encontrado em diferentes tamanhos, para atender a variadas necessidades no hospital. Optou-se pela embalagem plástica transparente para facilitar a visualização dos medicamentos que serão inseridos, mas o recipiente também poderia ser de papel, sem que houvesse alteração na funcionalidade de leitura da antena RFID. O recipiente pode abrigar os medicamentos sólidos como comprimidos e cápsulas (inseridos diretamente no recipiente), além de diferentes formas medicamentosas utilizadas em hospitais, como os medicamentos líquidos, em pó, pomadas, cremes (que tem suas embalagens originais inseridas no recipiente plástico).

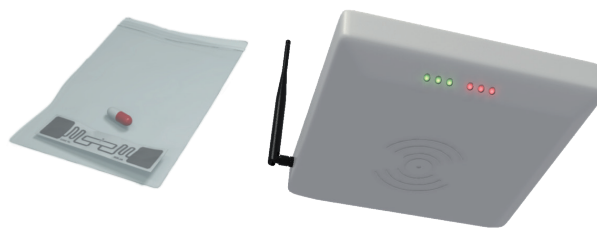
Antena e Leitor RFID

Utilizou-se uma antena com leitor RFID integrado, rede de Wi-Fi e *leds* de sinalização (verde e vermelho, para *feedback* visual das *tags* autorizadas ou negadas pelo sistema). Uma das vantagens de um equipamento integrado com Leitor e Antena RFID é o formato compacto, uma vez que utiliza um único equipamento, sem antena externa visível, o que possibilita a aplicação para diferentes funções que exigem maior mobilidade, além da redução de conectores e cabo coaxial e facilidade de instalação.

Com os *leds* de sinalização na própria antena, ainda evita-se a utilização de um equipamento específico para a finalidade e tem-se um *feedback* visual da resposta do sistema para as *tags*, podendo ser utilizados para demonstrar que uma *tag* foi autorizada ou negada para determinada função configurada no software. Pode-se, por exemplo, configurar o software para responder ações de interação quando realizada leitura de determinadas *tags*. Com isso, ao aproximar uma *tag* do campo de leitura do equipamento

RFID, pode-se abrir uma porta, emitindo sinalização de led verde, ou negar executar uma função para determinada *tag*, emitindo sinalização de led vermelho. Com a possibilidade de fornecer um *feedback* imediato de uma interação, pode-se auxiliar os enfermeiros na execução correta da administração dos medicamentos ao paciente, acionando os leds verdes para uma confirmação de entrega ao paciente certo e leds vermelhos para informar que os medicamentos entregues não são para aquele paciente em questão.

Figura 1: Recipiente com tag e antena RFID



Após a definição e testes com *tags* e equipamentos, tem-se o desenvolvimento dos processos de rastreabilidade da medicação, contemplando o monitoramento RFID dos agentes do sistema e leitos do hospital, além do cadastro de frascos e recipiente de medicamentos no posto de enfermagem.

A rastreabilidade com RFID no hospital

Monitoramento do paciente

Ao iniciar no hospital, cada paciente recebe uma identificação própria, por meio de uma pulseira com RFID UHF. Assim, é feita a associação dos dados do paciente com o que foi prescrito pelo médico, utilizando o prontuário eletrônico e integrando os dados gerados com a transmissão por RFID e do cadastro manual. Com isso, cria-se a associação entre os dados de identificação do paciente com o da prescrição e o recipiente de medicamentos, realizando confirmação eletrônica do que é indicado no prontuário.

Cadastro no Posto de Enfermagem

No posto de enfermagem do hospital, é feito o controle da movimentação dos medicamentos, que só são disponibilizados após a confirmação eletrônica do que é indicado no prontuário do paciente. Cada medicamento que será ministrado ao paciente tem sua saída controlada por meio da *tag* RFID nas caixas e frascos. Há a identificação do recipiente de remédios com os dados do prontuário, como dosagem, horário e local em que o paciente está.

Frascos de Medicamentos: No posto de enfermagem do hospital, há a identificação dos frascos e caixas de medicamentos com *tag* RFID, com o intuito de realizar o cadastro eletrônico com RFID no momento do preparo do recipiente de medicamentos do paciente. Com isso, busca-se evitar ainda troca de medicamentos, com o sistema emitindo

alerta caso o medicamento utilizado seja diferente do está prescrito ao paciente.

Recipiente de Medicamentos: Os medicamentos que serão enviados aos pacientes são alocados em um recipiente próprio, identificado com *tag* RFID, que é vinculada aos dados da prescrição médica, como o tipo de medicamento, dosagem, horário e local em que o paciente está. Com isso, o recipiente de medicamentos é atuante do sistema de medicação no momento de preparo e dispensação da terapia medicamentosa, bem como na administração do medicamento ao paciente. É a partir da identificação RFID do recipiente que o sistema irá realizar a análise dos dados, emitindo alerta caso o recipiente seja enviado ao leito errado ou em horários diferentes dos determinados na prescrição.

Monitoramento do Leito do Paciente

O processo interativo com RFID desenvolvido para controlar a administração de medicamentos aos pacientes é fomentado pela integração de diferentes tecnologias no hospital. Além da inserção das *tags* RFID para a identificação eletrônica dos agentes do sistema, há a presença das antenas RFID nos leitos, a fim de realizar a verificação e o monitoramento do processo. Dessa forma, pode-se estabelecer uma infraestrutura capaz de realizar a rastreabilidade com RFID no hospital, criando um sistema de rastreabilidade em tempo real que permita localizar os agentes, registrar um histórico e emitir alertas de erros. Assim, o sistema garantirá o controle administração de medicamentos.

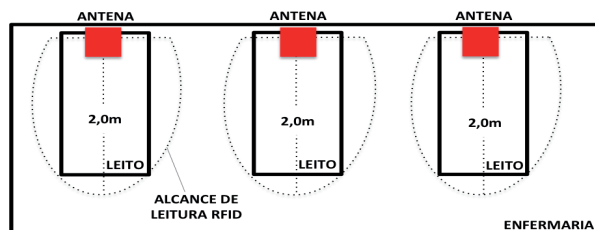
No quarto e na enfermaria, há o monitoramento específico do leito do paciente, para auxiliar na administração dos medicamentos aos pacientes. Assim, é feita a associação dos dados do paciente com o que foi prescrito pelo médico no prontuário eletrônico de internação e integrando os dados gerados com a transmissão por RFID.

No quarto do paciente e na enfermaria, há a instalação de antenas RFID na parede, em altura acima do leito, realizando o monitoramento de quem entra no local e detectando no campo de leitura do leito os elementos com a *tag* RFID, como a pulseira do paciente e o recipiente de medicamentos. Tanto no quarto individual quanto na enfermaria, tem-se uma antena posicionada acima da cama, na parede do local, em torno de 2 metros do chão. A configuração entre o posicionamento da antena na parede, o alcance do sinal dbi (ganho em decibel) e o tipo da *tag* (RFID UHF) gera um alcance de leitura a uma distância em torno de 2 metros para frente e 1,5 metros lateralmente (Figura 2).

Com isso, obtém-se espaço necessário para haja a leitura de cada leito individualmente, com margem para os lados, mas sem que o posicionamento de uma antena interfira no campo de leitura da outra (Figura 2). Assim, pode-se efetuar com segurança a detecção dos remédios que são ministrados, bem como a detecção do próprio pa-

ciente em seu leito. – Esta configuração de posicionamento da antena e distância de leitura é definida de modo padrão para este caso de monitoramento e deve ser ajustada de acordo com a estrutura do hospital e de cada ambiente que possua a entrega de medicamentos aos pacientes, como UTI e maternidade. Com isso, dependendo da necessidade de posicionamento da antena no leito, a distância de leitura deve ser reconfigurada, variando em relação aos 2 metros definidos anteriormente.

Figura 2: Mapa das antenas RFID na enfermaria



Dessa forma, pretende-se auxiliar os profissionais no cumprimento exato de cada medicação do paciente, realizando a confirmação eletrônica do que está prescrito no prontuário. Caso a medicação enviada ao leito do paciente não seja a mesma prescrita em seu prontuário, a própria antena RFID emitirá alerta visual no quarto e o sistema é atualizado em tempo real na enfermaria (Figura 3), buscando evitar o erro antes de ocorrer. Com isso, pode-se evitar ainda que, mesmo que o recipiente de remédios esteja de acordo com o prontuário, seja enviado em horário errado.

Figura 3: Processo interativo de monitoramento RFID



Discussão

Os resultados da implantação de um sistema de automação no ambiente hospitalar vislumbram a melhoria da qualidade do tratamento de saúde, redução de custos e avanço do conhecimento. O desenho de um plano de gestão hospitalar desse porte requer considerações complexas, mas todo o esforço deve ser feito para vencer barreiras de ordem organizacional e tecnológica. A gerência da complexidade da medicina moderna exige a automação dos registros médicos como tecnologia essencial aos cuidados médicos. Pode-se inferir por Oranje-Nassau *et*

al. (2009) que o sistema de informações do hospital que possui a aplicação da rastreabilidade por RFID, pode oferecer condições para melhorar a sua gestão, ao auxiliar a produtividade dos funcionários e também o atendimento aos pacientes.

A partir da definição dos agentes do sistema, com a inclusão das respectivas *tags* RFID, pode-se estabelecer a identificação eletrônica dos frascos e dos recipientes de medicamentos, além do paciente e da medicação que chega ao seu leito, com a adoção da antena RFID no local. A integração entre os elementos RFID, associada à presença de computadores e software para o gerenciamento de dados, ressalta o ambiente de convergência das tecnologias, que atuam em conjunto para oferecer aplicações para os usuários no hospital, auxiliando no estabelecimento do processo da administração de medicamentos.

Dessa forma, cria-se uma plataforma tecnológica propícia para a rastreabilidade, efetuando a mobilização do conhecimento destacada por Souza, Lima & Costa (2008), auxiliando não apenas na gestão de informações do hospital, mas o controle tempo real, que, nesse caso, pode evitar os erros de medicação. Com este monitoramento, pode-se estabelecer um caminho para aprimorar a qualidade dos serviços de saúde prestados (BUENO *et al.*, 2010).

De acordo com Meyer, Roest & Szirbik (2010), pode-se inferir que esta rastreabilidade contribui ainda com o planejamento da organização, pois facilita na determinação dos exatos momentos em que um evento ocorre, minimizando erros em relatórios ocasionados pela falta de precisão na troca de informações, evidenciando a confiabilidade na troca de informações, além de dados que refletem corretamente uma situação. Assim, com o monitoramento de pacientes, pode-se oferecer um processo que auxilie os profissionais não apenas no registro e acompanhamento de histórico sobre a jornada no hospital, mas também no cumprimento exato da medicação, gerando um conhecimento preciso de cada paciente.

São soluções que convergem com o estudo realizado por Rodrigues, Xavier & Adriano (2001) sobre o sistema de gerenciamento de pacientes, interligado a outros módulos, pois atua na identificação dos indivíduos, com um banco de dados que serve para o estabelecimento de um quadro da saúde do local e que podem ser compartilhados e agrupados posteriormente com qualquer unidade de assistência médica. Isto porque um sistema de gerenciamento eletrônico também poderia gerar como resultados a construção de dados demográficos, com um censo de pacientes e relatórios estatísticos, oferecendo a outros departamentos do hospital as informações sobre cada paciente registrado.

A partir desta configuração, entende-se que a tecnologia RFID no contexto desenvolvido representa não apenas um suporte para a realização do processo, mas, compõe a mediação da interação entre o meio hospitalar e as pessoas participantes. Ou seja, a tecnologia está inserida no modo

como ocorre o próprio processo de administração de medicamentos, atuando na experiência dos usuários, como no cadastro do recipiente, na entrega para o paciente e na confirmação do sistema. Assim, a tecnologia RFID expande sua atuação para além do espaço virtual, integrando as tarefas dos funcionários, os serviços relativos aos pacientes e a gestão como um todo do hospital.

Com a identificação eletrônica com RFID, derivam-se contribuições para a realização também do monitoramento de médicos e funcionários, permitindo um gerenciamento do dia de trabalho, com os locais em que circularam, dias e horários, facilitando no que se refere ao vínculo que tiveram com os pacientes, por meio da associação com os prontuários eletrônicos. De modo complementar, manter um monitoramento e registro sobre a utilização de determinados equipamentos auxilia na localização imediata do aparelho no hospital, otimizando tempo dos funcionários e gerando informações para a identificação de perdas de materiais.

Com o monitoramento de locais e leitos do hospital, pode-se criar um histórico de localização, além de permitir ou negar acesso a determinadas áreas restritas, condicionando a abertura de portas à identificação das *tags* RFID. Por Rodrigues, Xavier & Adriano (2001), mantendo registros sobre a movimentação, ocupação e tempo permanência no hospital, gera-se a rastreabilidade interna de cada paciente, auxiliando no gerenciamento de leitos e no controle da movimentação interna do hospital.

Importante atentar ainda que para a implementação precisa da plataforma de gestão é necessário o apoio e a integração plena dos processos internos. Remetendo aos autores Helms, *et al.* (2008), pode-se solucionar dificuldades recorrentes na área da saúde, como a demora para adoção de tecnologias de informação, além da resistência ao uso de novas tecnologias para a execução dos processos. Com êxito da rastreabilidade de medicação, por Kirigia *et al.* (2005), pode-se entender que há a incorporação de valor das tecnologias de informação para a melhoria da gestão hospitalar, ao contribuir para o desenvolvimento das atividades dos profissionais de saúde e funcionários do hospital, além dos próprios pacientes.

Não obstante, há de se ressaltar que o avanço da TI no setor da saúde em geral, principalmente o hospitalar, exige uma educação paralela dos profissionais de saúde em um estudo destinado a melhorar as práticas de registro indispensáveis à melhoria da qualidade do tratamento médico.

Considerações finais

Uma plataforma de monitoramento e controle, baseada em RFID, pode contribuir para a gestão da informação em um hospital, oferecendo agilidade e eficiência nos processos internos. Considerando que a profissionalização dos processos gerenciais das instituições hospitalares

constitui-se em uma necessidade tanto do ponto de vista da eficiência como a competitividade, elegeu-se como foco deste estudo o papel da rastreabilidade no auxílio à gestão hospitalar, seus processos e estratégias.

Este artigo teve o objetivo de analisar uma proposta para rastreabilidade no ambiente hospitalar, que utiliza a tecnologia RFID para o controle de dados de pacientes, o monitoramento da movimentação dos locais internos (em específico, para a farmácia e cozinha) e equipamentos.

Para projetar um sistema de rastreabilidade, foi necessário compreender o contexto, proceder a análise dos objetivos e instruções que devem orientar o desenvolvimento do mesmo. Neste sentido, foi realizado o tratamento e análise dos procedimentos propostos, visando à definição de um quadro de referência que orientará o desenvolvimento de opções de sistemas de rastreabilidade adequados ao contexto de análise. Além disso, pôde-se contribuir para o gerenciamento de processos, com uma visão global das ações de medicação que ocorrem no hospital, facilitando a tomada de decisões no caso de ocorrências serem encontradas.

Foram determinados os momentos-chave para o monitoramento, que seriam durante o preparo dos medicamentos no posto de enfermagem e na entrega no leito do paciente. Este cenário implicou em questões decisivas para o processo, com a necessidade de desenvolver estratégias sobre como identificar que o paciente está recebendo a medicação correta, de que modo se poderia evitar um erro no preparo do medicamento, quais mecanismos poderiam ser utilizados para gerar alertas de erros, entre outros desafios.

Ainda existem muitas problemáticas que devem ser superadas no processo da rastreabilidade. O aprimoramento do processo se dará com as experiências, o levantamento das dificuldades e a adequação à realidade brasileira. Para isso, deve-se haver um maior comprometimento e participação de todos os elos envolvidos no processo de rastreabilidade. Espera-se que as dificuldades sejam superadas, devendo esse ser uma meta a ser perseguida. A atual situação ressalta a importância de que esforços sejam empreendidos, ampliando o desenvolvimento e aplicação de modelos de pesquisa a fim de promover um maior alinhamento deste segmento.

De posse dessas informações, derivam-se conclusões importantes não apenas para as certificadoras, como constituintes de um elo do sistema, mas também para a implementação de políticas públicas de desenvolvimento na saúde. A urgência do tipo de trabalho que exigem os sistemas hospitalares ressalta a importância de que esforços sejam empreendidos, ampliando o desenvolvimento e aplicação de modelos de pesquisa a fim de promover um maior alinhamento no setor da saúde, visando proporcionar melhorias na segurança dos pacientes e na qualidade do atendimento médico em relação à administração dos medicamentos em hospitais.

Referências

1. American Society of Health-System Pharmacists, American Pharmacists Association. *Best Practices from the ASHP-APhA Medication Management in Care Transitions Initiative*. February. 2013.
2. Barker, K.n., Flyin, E.a., Pepper, G.a., Bates, D.w., Mikeal, R.L. *Medication errors observed in 36 health care facilities*. Arch Intern Med 2002; 162(16):1897-903.
3. Berdot, S., Gillaizeau, F., Caruba, T., Prognon, P., Durieux, P., Brigitte Sabatier, B. *Drug Administration Errors in Hospital In Patients: A Systematic Review*. PLoS ONE 8(6): e68856. doi:10.1371/journal.pone.0068856. 2013.
4. Bowersox, D. J.; Closs, D. J. *Logística empresarial: o processo de integração da cadeia de suprimentos*. São Paulo: Atlas, 2009.
5. Bueno, A. M., Bermejo, P. H. S., Balloni, A. J., Zambalde, A. L. *Gestão de Tecnologia da Informação em Hospitais Sul-Mineiros*. In: XVII SIMPEP – Simpósio de Engenharia de Produção. Bauru-SP. 2010.
6. Carayon, P. *Human factors in patient safety as an innovation*. Applied Ergonomics, v.41, 657–665. 2010.
7. Chao, C., Yang, J., Jen, W. *Determining Technology Trends and Forecasts of RFID by a Historical Review and Bibliometric Analysis from 1991 to 2005*. Technovation. Taiwan, 27, pp.268–279. 2007.
8. Dedefo, M. G.; Mitike, A. H.; Angamo, M. T. *Incidence and determinants of medication errors and adverse drug events among hospitalized children in West Ethiopia*. In: BMC Pediatrics, v.16, n.1, article 81, 2016. doi :10.1186/s12887-016-0619-5
9. Dias, E. M. *Código de barras*. Universidade Católica de Brasília. Departamento de Matemática. Brasília, 2009.
10. Duroc, Y., Kaddour, D. *RFID Potential Impacts and Future Evolution for Green Projects*. Energy Procedia, Elsevier/Science Direct, v.18, pp.91-98. 2012.
11. Freiburger, A.; Bezerra, M. B. P. *RFID e Seus Impactos na Logística*. Logística Descomplicada. Março, 2010.
12. Helms, M. M., Moore, R., Ahmadi, M. *Information Technology and Healthcare Industry: a Swot Analysis*. International Journal of Healthcare Information Systems and Informatics, v.3, n.1, 75-92. 2008.
13. International Organization for Standardization ISO 9000:200. *Quality Management Systems: Fundamentals and Vocabulary*. Brussels: European Standard. Committee for Standardization.2000. 2013.
14. Kirigia, J. M., Seddoh, A., Gatwiri, D., Muthuri, L. H. K., Seddoh, J. *E-Health: Determinants, Opportunities, Challenges and the Way Forward in the WHO African Region*. BCM Public Health, 5, 1-11. 2005.
15. Laudon, K. C. Laudon, J. P. *Essentials of Management Information Systems*. 8 th/9th/10th Edition, Pearson Education Inc.,Upper Saddle River, NJ 07458. 2009.
16. Meyer, G. G.; Roest G. B.; Szirbik, N. B. *Intelligent Products for Monitoring and Control of Road-Based Logistics*.

- In: *Proceedings of the 4th IEEE International Conference on Management and Service Science (MASS'10)*, Wuhan, China, 2010.
17. Miasso, A. I.; Grou, C. R.; Cassini, S. H. De B.; Silva, A. E. B. De C.; Fakihi, F. T. *Erros de medicação: tipos, fatores causais e providências tomadas em quatro hospitais brasileiros*. Rev. Esc. Enferm. USP, 40(4):524-32. 2006.
 18. Oranje-Nassau, C. V.; Schindler, H. R.; Valeri, L.; Vilamovska, A.; Hatzianandreu, E.; Conklin, A. *Study on the requirements and options for Radio Frequency Identification (RFID) application in healthcare: Final report*. RAND Corporation: Europe Commission, 2009.
 19. Patel, N.; Desai, M. Shah, S.; Patel, P.; Gandhi, A. *A study of medication errors in a tertiary care hospital*. Perspect Clin Res. Oct-Dec; v.7, n.4., 168–173, 2016. doi: 10.4103/2229-3485.192039
 20. Roberti, M., 2014. *Como o RFID está Transformando as Operações de um Hospital*. RFID Journal Brasil. Agosto, 2012.
 21. Rodrigues, J., Filho; Xavier, J. C. B.; Adriano, A. L. *A Tecnologia da Informação na Área Hospitalar: um Caso de Implementação de um Sistema de Registro de Pacientes*. Revista de Administração Contemporânea - RAC, 5 (1), pp. 105-120, 3a. edição, Jan./Abr. 2001.
 22. Soares, R. S.; Comucci, T. L.; Dos Santos, T. C. Almeida, T. B.; Leite, P. R. *O Impacto da Tecnologia de Etiqueta Inteligente (RFID) na Performance de Cadeias de Suprimentos – Um Estudo no Brasil*. Revista Jovens Pesquisadores, ano V, n. 9, jul./dez. 2008.
 23. Souza, E. R. M. F. A.; Lima, E. P.; Costa, S. E. G. *Gestão Estratégica do Conhecimento: Uma Abordagem Fundamentada no Desenvolvimento de Medidas de Desempenho*. In: IV Congresso Nacional de Excelência em Gestão. Responsabilidade Socioambiental das Organizações Brasileiras. Rio de Janeiro: Julho-Agosto. 2008.
 24. Sun, C. *Application of RFID Technology for Logistics on Internet of Things*. In: AASRI Conference on Computational Intelligence and Bioinformatics. 2012
 25. Tajima, M. *Strategic Value of RFID in Supply Chain Management*. Journal of Purchasing & Supply. V.13, p.261-273, 2007.
 26. Zambelli, M. T., 2004. *Rastreabilidade: Sinônimo de Eficiência e Segurança*. Revista Hospitalar, ed. 2004.

Recibido: 24/08/2018.

Aprobado: 20/05/2019.

RECYT

Año 21 / N° 32 / 2019 / 48–55

Encapsulación de antioxidantes del concentrado de Yerba Mate: Influencia de las condiciones de secado

Encapsulation of antioxidants from Yerba Mate concentrate: Influence of drying conditions

José O. Hermosilla Vera^{1,2,*}, Miguel E. Schmalko²

1- Facultad de Ciencias y Tecnología (FaCyT). Universidad Nacional de Itapúa (UNI). Abog.

Lorenzo Zacarías N°255 c/ Ruta N°1. Encarnación, Itapúa, Paraguay.

2- Laboratorio de Yerba Mate. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales (FCEQyN). Universidad

Nacional de Misiones (UNaM). Ruta Nacional N°12, Km 7,5. Posadas, Misiones, Argentina.

* E-mail: joseosvaldohermosilla@gmail.com

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue estudiar la influencia de las condiciones de secado de cápsulas de extracto de yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hilaire). Las mismas se obtuvieron aplicando la técnica de gelificación iónica y fueron sometidas a tres condiciones de secado: microondas y secado convectivo a 60 y 80° C. Las isoterms de adsorción obtenidas fueron del tipo sigmoidal y la ecuación de GAB fue la que mejor explicó el comportamiento de los datos experimentales, no encontrándose diferencias estadísticas significativas entre los materiales. Los contenidos de polifenoles totales (CPT) y capacidad antioxidante (CAO) presentaron valores entre 20,12 y 19,68 g EAG/100g ms (masa seca) para CPT, y para la CAO entre 20,47 y 19,45 g EAA/100g ms, no encontrándose diferencias estadísticas significativas. El consumo de 5 g de cápsulas aportaría el 41% del requerimiento diario de calcio. La velocidad de rehidratación fue mayor para las cápsulas secadas con microondas.

Palabras clave: Yerba mate; Gelificación iónica; Antioxidante; Encapsulación; Secado

Abstract

The objective of this work was to study the influence of drying conditions on yerba mate extract capsules (*Ilex paraguariensis* St. Hilaire). They were obtained by applying the ionic gelation technique and were subjected to three drying conditions: microwave and convective drying at 60 and 80° C. The sorption isotherms obtained were of the sigmoidal type and the GAB equation was the one that best explained the behavior of the experimental data, and no significant statistical differences were found in the three materials. The contents of total polyphenols (CPT) and antioxidant capacity (CAO) presented values between 20.12 and 19.68 g EAG / 100g DM (dry mass) for CPT, and for the CAO between 20.47 and 19.45 g EAA / 100g DM, no significant statistical differences were found. The consumption of 5 g of capsules, would contribute 41% of calcium daily requirement. The rehydration rate was higher for the microwave-dried capsules.

Keywords: Yerba mate; Ionic gelation; Antioxidant; Encapsulation; Drying

Introducción

En la actualidad, el hombre ha generado cambios en el estilo de vida y hábitos alimentarios. La elección racional de alimentos se basa no sólo en satisfacer el hambre y proporcionar los nutrientes necesarios, sino también en prevenir las enfermedades relacionadas con la nutrición y mejorar el bienestar físico y mental. Los alimentos denominados funcionales constituyen un mercado en alza, siendo uno de los temas más estudiados en los últimos años [1]. Una de las áreas de mayor interés en el desarrollo de estos alimentos, se fundamenta en la posibilidad de modular los sistemas redox y antioxidante del organismo, ya que dichos factores han

sido implicados en el desarrollo de numerosas enfermedades crónicas y en el proceso de envejecimiento [2].

La yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hilaire), es considerada una fuente rica de antioxidantes. Se han encontrado una gran variedad de compuestos que aportan beneficios para la salud, lo que la hace un material ideal para la extracción de compuestos activos y su posterior aplicación como ingrediente funcional [3], [4].

En sistemas alimentarios, el extracto de yerba mate ha demostrado capacidad de prevenir el deterioro oxidativo de productos con alto contenido graso, mostrando un elevado poder antioxidante inclusive a bajas concentraciones [5], [6]. Sin embargo, su sabor característico limita su incor-

poración a otros alimentos debido a que puede generar rechazo por parte de los consumidores por modificación del sabor original. Los compuestos fenólicos son los de mayor influencia en la capacidad antioxidante del extracto de yerba mate [7]. Las principales clases de ácidos clorogénicos hallados en la naturaleza son los ácidos cafeoilquínicos (CQA), ácidos dicafeoilquínicos (diCQA), y menos comunes los ácidos feruloilquínicos (FQAs).

El interés en el empleo de yerba mate es aprovechar sus propiedades antioxidantes para el desarrollo de un ingrediente funcional que pueda dar lugar a distintos efectos fisiológicos beneficiosos para el organismo humano, y dar respuestas a las expectativas de los consumidores. En el presente trabajo se propone encapsular los antioxidantes a partir del extracto de yerba mate, en matrices de alginato de calcio facilitando la manipulación, conservación y adición a otros alimentos y de esta manera poder superar los inconvenientes de inestabilidad, disminuir el gusto desagradable, y la vida útil del compuesto [8], [9]. Esto permitirá encontrar nuevos mercados y agregar antioxidantes naturales a los alimentos compatibles para evitar enranciamientos.

El secado es uno de los métodos más utilizados en la conservación de alimentos dado que, al reducir la actividad del agua, se evita el crecimiento de microorganismos. El método de secado más utilizado es el secado convectivo. El mismo se aplica al secado de alimentos utilizando aire a temperaturas bajas y moderadas (menores a 100° C). En los últimos años se han empleado nuevos métodos de secado, como ser el secado con microondas.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la influencia de las condiciones de secado de las cápsulas sobre las propiedades fisicoquímicas empleando secado convectivo con aire a dos temperaturas (60 y 80° C) y microondas.

Materiales y Métodos

Preparación de las cápsulas

Para la obtención de las cápsulas se preparó un extracto acuoso de yerba mate soluble (adquirida del mercado local) al 15% p/v y se mezcló con alginato de sodio al 2% p/v. Las cápsulas se obtuvieron mediante gelificación iónica por goteo sobre una solución de CaCl_2 al 3% utilizando una bureta (con apertura de salida de 2,5 mm) para regular el paso de la solución y la caída de las gotas en la solución de cloruro de calcio. Esta solución estaba contenida en un vaso de precipitados ubicado a una distancia de 10 cm debajo del pico de la bureta y era mantenida con agitación magnética. Las cápsulas permanecieron en dicha solución durante 15 min. Luego fueron filtradas y lavadas con agua destilada y posteriormente fueron secadas [4].

Cinética de secado

Para determinar la cinética las cápsulas fueron secadas en microondas y secado convectivo con aire a 60 y 80° C. Para la primera se utilizó una potencia 90 watts, pesando cada 5 minutos hasta llegar a peso constante. Posteriormente éstas fueron enfriadas y almacenadas en recipientes herméticos. El secado convectivo se realizó en una capa delgada de las cápsulas colocadas en canastillas. Se pesó la muestra inicial (aproximadamente 100 g) y luego fueron llevadas al secadero. En ambos casos se utilizó aire con una humedad absoluta de aproximadamente 0,01 kg agua/kg aire seco y una velocidad de 1 m/s en flujo paralelo. Los datos experimentales se obtuvieron durante el transcurso del secado, pesando las muestras en una balanza marca SARTORIUS–WELKE GMBH tipo 2257, industria alemana, con una precisión de $\pm 0,01$ g a intervalos de 15 minutos para 60° C y 10 minutos para 80° C hasta peso aproximadamente constante. Con estos valores, el de la humedad final y las pesadas previas, se determinó la variación del contenido de humedad en función del tiempo.

Contenido de humedad

Para determinar el contenido de humedad se utilizó el método de pérdida de masa en estufa a 103° C $\pm$ 2° C hasta pesada constante (aproximadamente 5 horas). Se determinó el peso de las muestras antes y después de ser llevadas a estufa en una balanza analítica ANR con precisión de $\pm 0,0001$ g.

Isotermas de adsorción

Para determinar las isotermas de adsorción se utilizó el método estático. Para ello las cápsulas fueron introducidas, por triplicado, en recipientes cerrados con diferentes soluciones salinas saturadas en equilibrio, las cuales generaban atmósferas de una a_w determinada. Los recipientes se dispusieron en una estufa a 25° C $\pm$ 1° C, donde permanecieron hasta alcanzar el equilibrio (aproximadamente 15 días). Luego se determinó el contenido de humedad de las muestras. Las sales utilizadas, así como el valor de a_w utilizadas se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1: Rango de actividades de agua (a_w) de las soluciones salinas saturadas a 25° C.

Sales	a_w
LiCl	0,113
MgNO_3	0,528
CoCl_2	0,649
NaBr	0,575
NaNO_3	0,742
NaCl	0,752
KCl	0,843

Los datos experimentales de contenido de humedad y a_w se ajustaron a las ecuaciones de GAB (Guggenheim, Anderson y de Boer), Halsey y Henderson (Tabla 2). La calidad del ajuste de los modelos propuestos se evaluó por medio del coeficiente de correlación lineal (R^2). Se utilizó el programa Statgraphics Centurion XVII, Statpoint Technologies.

Tabla 2: Ecuaciones utilizadas para el modelado de las isotermas de sorción.

Modelo	Ecuación	Parámetros
GAB	Ecuación 1 $X = \frac{X_m C k a_w}{(1 - k a_w)(1 - k a_w + C k a_w)}$	X: humedad del producto Xm: humedad del producto cuando los puntos de adsorción primarios están saturados por moléculas de agua C: constante de Guggenheim relacionada con el calor de sorción de la monocapa K: factor de corrección relacionado con el calor de sorción de la multicapa
Halsey	Ecuación 2 $X = \left(\frac{A}{\ln \left(\frac{1}{a_w} \right)} \right)^{1/B}$	A y B: constantes del modelo B: caracteriza el tipo de interacción entre el vapor y el sólido
Henderson	Ecuación 3 $1 - a_w = e^{-kx^n}$	k y n son constantes

Determinación del contenido de polifenoles totales

Las cápsulas fueron trituradas en un molino de acero inox (marca Arcano), luego se tamizó utilizando una malla de 420 micra. Se pesaron $0,2 \pm 0,01$ g de muestras tamizadas y se introdujeron en tubos cónicos para luego agregar 5 mL de metanol al 70%, la mezcla se homogeneizó en Vortex unos segundos para luego llevarla a un baño termostatzado a 70° C durante 5 minutos. Se dejó enfriar y se centrifugó a 2.052 g (3500 rpm) durante 10 minutos. El sobrenadante fue retirado y reservado en un tubo graduado. El proceso de extracción se realizó nuevamente y el sobrenadante obtenido fue combinado con el reservado de la primera extracción. El volumen final de los extractos combinados fue llevado a 10 mL con metanol al 70%.

El contenido de polifenoles totales (CPT) fue determinado mediante el método de Folin-Ciocalteu. Para el análisis se tomó 1 mL del extracto y se realizó una dilución (1:100) con agua destilada. De esta solución se tomó 1,0 mL y se colocó en un tubo de ensayo. Se agregaron 5,0 mL de la solución del reactivo de Folin-Ciocalteu y luego 4,0 mL de la solución de carbonato de sodio. Los tubos se agitaron, se taparon y se dejaron reposar durante 60 minutos a temperatura ambiente antes de realizar las lecturas de absorbancia. Como blanco de reactivos se reemplazó 1,0 mL del extracto diluido con agua destilada. Las lecturas de absorbancia se realizaron a 765 nm usando una cubeta de cuarzo de 1 cm de camino óptico. Para obtener la curva de calibrado se prepararon soluciones de ácido gálico

en concentraciones de 0 a 50 µg/mL. Se realizaron dos determinaciones analíticas por extracto. El contenido de polifenoles totales en el extracto original se expresó como g de polifenoles totales equivalentes a ácido gálico en 100 g de materia seca (g EAG % ms) [10].

Determinación de la capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante (CAO) se determinó mediante el ensayo del radical libre DPPH, usando ácido ascórbico como estándar y se expresó como g equivalentes a ácido ascórbico por cada 100 g de materia seca (g EAA % ms). Para ello, 1 mL de cada extracto de cápsulas de yerba mate obtenido fue diluido (1:25) con agua destilada. Luego, se mezclaron 100 µL de cada extracto de yerba mate diluido con 3 mL de una solución metanólica de DPPH (100 µL/L) en un frasco de color caramelo. Los frascos de reacción se incubaron en estufa a 37° C durante 2 h. Las lecturas de absorbancia se realizaron a 517 nm usando una cubeta de cuarzo de 1 cm de camino óptico y como blanco se reemplazaron los 100 µL de cada extracto diluido por metanol. La curva de calibración preparada con concentraciones de ácido ascórbico entre 0 y 100 µg /L resultó $y = -0,0421 \cdot x + 1,033$ ($R^2 = 0,9988$), siendo x la cantidad del estándar (µg) utilizada en el ensayo.

Velocidad de rehidratación

Las cápsulas, contenidas en un tamiz colador, fueron sumergidas en un baño de agua a temperatura ambiente. Se extrajeron del baño en diferentes períodos de tiempo (5,10, 20 y 30 minutos), fueron secadas con papel tissue para retirar el agua excedente y luego fueron pesadas. La velocidad de rehidratación se obtuvo dividiendo la ganancia de agua del material rehidratado por el peso del material seco [11] potato, carrot, banana, pepper, garlic, mushroom, onion, leek, pea, corn, pumpkin, and tomato. Las mediciones se realizaron por triplicado para cada muestra. Los valores de ganancia de humedad obtenidos fueron ajustados al modelo matemático de Pilosof [12].

Determinación del contenido calcio

Para determinar la concentración de Ca se utilizaron 2 g de cápsulas secas, las que fueron incineradas en una mufla a $525 \pm 25^\circ$ C. Al residuo se le agregaron 100 mL de una solución de HCl al 10% y la solución obtenida luego fue filtrada. Se extrajeron 10 mL y se diluyó con agua en una relación 1/10. Para medir la concentración iónica de Ca, se utilizó un espectrofotómetro de absorción atómica (Marca Analyst 200, Perkin Elmer) y se trabajó a una longitud de onda de 422.7 nm. Se realizaron dos mediciones para cada tipo de cápsulas y se informaron los valores medios [13].

Medición de los parámetros de color

Para la medición del color se utilizaron las cápsulas secadas en las diferentes condiciones. Se colocó una porción de cada muestra en un platillo de vidrio y se determinaron los parámetros de color: luminosidad (L^*), rojo-verde (a^*) y amarillo-azul (b^*) con un colorímetro modelo EZ4500L Mini Scab de Hunter Lab en tres puntos diferentes. Para el análisis de los datos se utilizaron los valores medios de tres réplicas por muestra.

Resultados y Discusión

Obtención de Cápsulas

Se obtuvieron cápsulas de alginato de calcio conteniendo extracto de yerba mate, aplicando la técnica de gelificación iónica. El tamaño de las cápsulas obtenidas fue poco uniforme, debido a que en el mismo influyen varios factores como el efecto de la gravedad, la tensión superficial de la solución que induce la gelificación y el tamaño del pico de la bureta que influyeron en gran medida en la esfericidad y el tamaño de las cápsulas obtenidas. Las cápsulas presentaron pequeños poros en la superficie. De acuerdo con otros trabajos realizados, las cápsulas hechas con alginatos presentan un rango de porosidad comprendida entre 5 a 200 nm. El mismo es un factor importante en la determinación de la liberación del componente bioactivo. La porosidad se puede reducir de manera significativa por secado parcial de las cápsulas o deshidratación completa [14], [15].

Cinética de secado

Los valores experimentales de contenido de humedad a diferentes tiempos se pueden observar en la Figura 1.

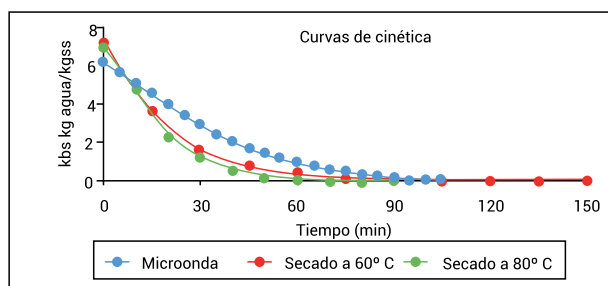


Figura 1: Curvas de cinética de secado de las tres condiciones.

Las cápsulas presentan un comportamiento similar, con una alta velocidad de secado inicial seguida por una etapa más lenta desde aproximadamente los 50 minutos, para llegar finalmente a un tiempo en el que las variaciones del contenido de humedad son muy bajas. En el secado en horno microonda la humedad permanece constante a partir

de los 100 minutos, para el secado convectivo a 60 °C a los 135 minutos, mientras que para el secado convectivo a 80°C a los 80 minutos. En el secado convectivo se puede observar que la cinética fue influenciada por la temperatura y que el empleo de temperaturas más elevadas redujo significativamente el tiempo necesario para secar las cápsulas.

En un estudio realizado por Doymaz [16] en el año 2005, se encontró que el efecto de la temperatura fue el más relevante en la disminución del contenido de humedad. De acuerdo con la teoría de la cinética, el aumento de la energía de las moléculas de agua es mayor con la temperatura del aire, generando un escape del vapor de agua de manera fácil y rápida hacia el medio [17]. En cuanto a lo que respecta a la cinética de secado en microonda la temperatura de secado y la potencia son dos de los factores más importantes en el secado por microondas. Estos dos factores tienen influencia significativa sobre los parámetros de secado como con el tiempo de secado [18].

Las cápsulas obtenidas fueron medidas (45 unidades) con un calibre electrónico marca MIYOSHI, encontrándose un diámetro medio igual a 2,99 mm y una desviación estándar de 0,55.

Isoterma de adsorción

Los valores obtenidos de humedad de equilibrio a 25 °C de las cápsulas de alginato secadas con microonda y en forma convectiva a 60 y 80 °C fueron ajustados a tres modelos diferentes: GAB, Halsey y Henderson. En la Tabla 3 se presentan los resultados, con sus respectivas constantes y los valores de coeficiente de correlación (R^2). Se encontró que el modelo de GAB mostró el mejor ajuste a los datos experimentales, con mayores coeficientes de determinación para todos los tratamientos analizadas, en un rango de $0,11 < a_w < 0,85$, aplicando un procedimiento de regresión no lineal. En todos los casos se obtuvo un ajuste con $R^2 \geq 91\%$ mientras que en los modelos de Halsey y Henderson se encontraron valores de coeficientes de correlación más bajos. El modelo GAB es uno de los modelos más aceptados para las isotermas de sorción, ya que no solo brinda el valor de humedad de la monocapa (X_m), sino que también se puede conocer las energías de interacción entre la primera capa y las moléculas más lejanas a los sitios individuales de sorción (constantes C y K del modelo) [19].

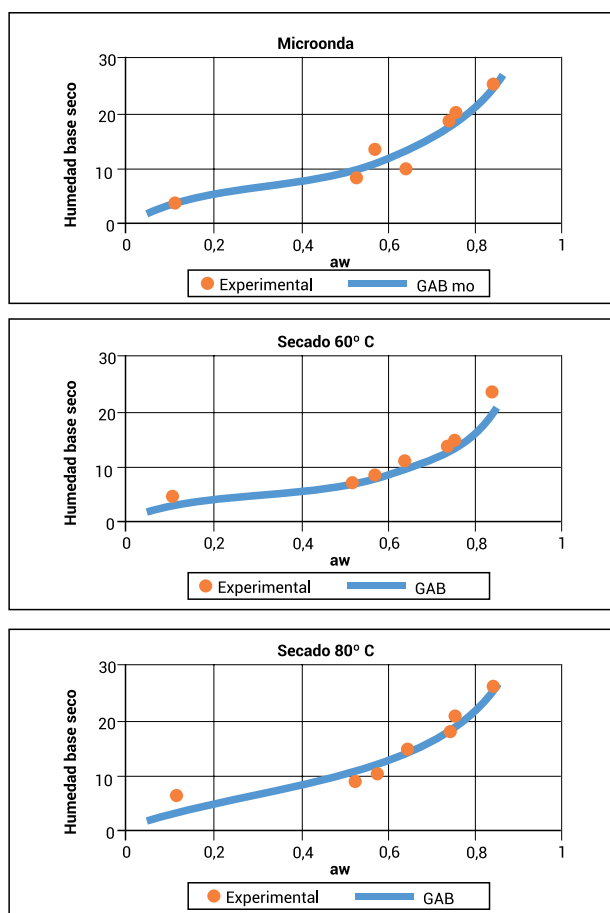
Los resultados obtenidos en este trabajo con relación al ajuste del modelo de GAB están de acuerdo con los valores límites de las constantes C y K sugeridos por Lewicki, (1997) [20] basado en el análisis matemático del modelo. Como forma de garantizar una buena descripción de las isotermas del tipo sigmoidal, este autor establece que las constantes deben asumir valores en un rango entre $0,24 \leq K \leq 1$ y $5,67 \leq C \leq \infty$.

Tabla 3: Parámetros de los modelos matemáticos ajustados para la isoterma de sorción de las cápsulas.

Modelo GAB				
Tratamiento	Xm	C	K	R ²
Microonda	5,36	14,18	0,94	91,99
Secado 60°C	4,80	8,94	0,97	94,20
Secado a 80°C	6,74	5,39	0,89	94,03
Modelo Halsey				
	A	R	R ²	
Microonda	10,71	1,25	92,42	
Secado a 60°C	21	1,48	88,54	
Secado a 80°C	21,29	1,49	86,94	
Modelo Henderson				
	K	N	R ²	
Microonda	0,02	1,34	85,12	
Secado a 60°C	0,01	1,53	75,45	
Secado a 80°C	0,01	1,54	74,81	

Xm, contenido de humedad de la monocapa en kg agua/100 kg ss; c, k, a, r, K, N, son los parámetros de ajuste correspondientes a cada modelo.

Para las cápsulas con los diferentes tratamientos, los resultados presentan valores de Xm en el rango entre 4,80 a 6,74 kg de agua/100kg de solido seco (Tabla 3).

**Figura 2:** Isothermas de adsorción de las cápsulas. Valores experimentales y predichos con el modelo de GAB.

En la Figura 2 se presentan las curvas de las isothermas de adsorción a 25° C de los materiales estudiados. En todos los casos fueron del tipo II, sigmoideas según lo estableci-

do por la clasificación de Brunauer [21].

De las curvas de las isothermas se obtuvieron los valores de humedad a los que se pueden almacenar las cápsulas de antioxidantes para que sean microbiológicamente estables a partir de un valor de 0,6 de actividad de agua, encontrándose valores de 11,66 kg agua/kg ss (solido seco) para secado en microonda, 10,36 kg agua/kg ss para secado convectivo a 60° C y 12,45 kg agua/ kg ss para secado convectivo a 80° C. En todos los casos el contenido de humedad debe ser inferior a estos valores para almacenar las cápsulas en condiciones seguras.

Contenido de polifenoles y capacidad antioxidante

Los resultados de contenidos de polifenoles totales y capacidad antioxidantes de las cápsulas sometidas a los tres procesos de secado se presentan en la Tabla 4. En la misma se muestran los valores medios y las desviaciones estándar. Al realizar un análisis estadístico se encuentra que el tipo de secado no ejerce una influencia significativa sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidantes de las cápsulas. Estos resultados coinciden con los obtenidos en el trabajo realizado por Escalada [22] en el año 2011 donde estudiaron los efectos de la zona de cultivo, tipo de secado y época de cosecha sobre los contenidos de polifenoles totales y sobre la capacidad antioxidante en yerba mate llegando a la conclusión que el tipo de secado no influye en los contenidos de polifenoles.

Tabla 4: Contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante con su desvío estándar.

Tratamiento	CPT (g EAG % ms)	CAO (g EAA % ms)
Microonda	19,68 ± 0,81	19,45 ± 0,80
Secado convectivo a 60°C	19,93± 0,19	21,93 ± 0,48
Secado convectivo a 80°C	20,12 ± 0,46	20,47 ± 0,67

Velocidad de Rehidratación

En la Tabla 5 se muestran los valores de los parámetros cinéticos y los parámetros de bondad de ajuste de los datos cinéticos de adsorción de agua que se ajustaron al modelo de Pilosof. El ajuste de los datos experimentales, de la adsorción de agua en cápsulas deshidratadas fue bueno, como lo muestran los valores de R².

Tabla 5: Constantes del modelo de Pilosof para cápsulas secadas en las tres condiciones.

Tratamiento	Q (kg agua/kg ss)	"b" (min)	R ²
SMO	2,22	1,21	98,42%
S60	2,35	9,13	97,06%
S80	2,12	9,14	99,32%

Los valores de Q (valor final de W) presentaron valores muy similares en las tres condiciones de secado estudiadas,

siendo menores a 2,35 kg de agua /kg de sólido seco. En tanto que los valores de b (tiempo necesario para absorber la mitad de la cantidad máxima de agua) se puede notar que en el secado convectivo presentan una relación directa entre ellos variando entre 9,13 a 9,14 minutos, mientras que el secado en microonda presentó un valor mucho menor e igual a 1,21 minutos. En la Figura 3 se pueden observar las curvas de rehidratación en las tres condiciones de secado. Se puede observar que las cápsulas secadas en microonda presentaron ganancia de agua **más rápida y con un mayor valor final**. Las cápsulas secadas a 60 y 80° C tuvieron un comportamiento similar.

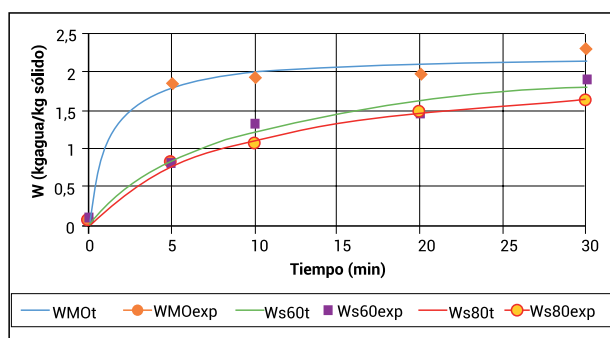


Figura 3: Modelo de Pilosof. Curvas de rehidratación de las cápsulas en las tres condiciones de secado: W: ganancia de agua; MO: microondas; S60: secado convectivo a 60° C; S80: secado convectivo a 80° C; subíndices t: teórico y exp: experimental

La intensidad y el mecanismo de deshidratación, sea aire caliente, osmótica, liofilización y microondas, afectan la permeabilidad de las membranas celulares, la formación de estructuras porosas y sumado a una pérdida de sólidos puede ejercer un efecto perjudicial sobre la rehidratación [23].

Determinación del contenido de calcio

La concentración de este ion depende de la preparación que se realiza y no del método de secado, pues no se modifica con este procesamiento. Las determinaciones se realizaron por duplicado en cada producto y los resultados se pueden observar en la Tabla 6. El **límite de detección** fue de 0,5 mg/g y el límite de cuantificación fue de 1 mg/g.

Tabla 6: Contenido de Calcio en las cápsulas en los diferentes productos.

Tratamiento	Concentración (mg/g ss)	Valor medio	Desviación standard	Límites de confianza al 95%
MO	134	109	19,6	88 – 129
	125			
SC60° C	112			
	108			
SC 80° C	84			
	89			

De acuerdo al valor promedio, el consumo de 5 g por día de estas cápsulas aportaría el 41% de la dosis diaria

requerida de este mineral (1300 mg/día) [24]. Este valor corresponde a la ingesta recomendada que figura en el rotulado nutricional de alimentos. Binaghi y colaboradores [25] encontraron que la biodisponibilidad del calcio no presentó modificaciones cuando se utilizó en preparaciones con yerba mate, utilizándose en leche fortificada.

Color

En la Figura 4 se muestran las comparaciones de medias e intervalos LSD (nivel de confianza del 95%) para cada parámetro de color (“L*”, “a*” y “b*”) de las tres condiciones de secado.

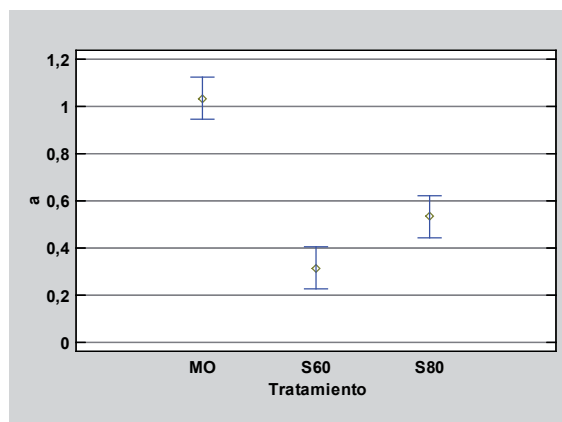
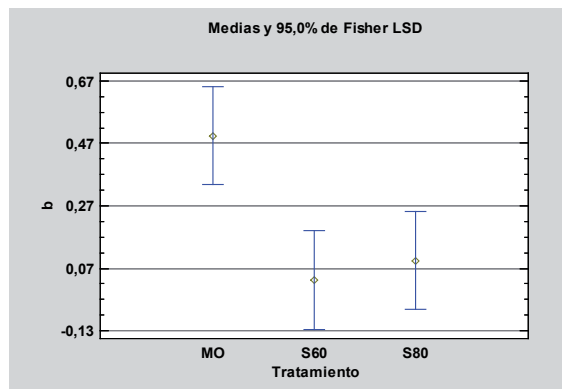
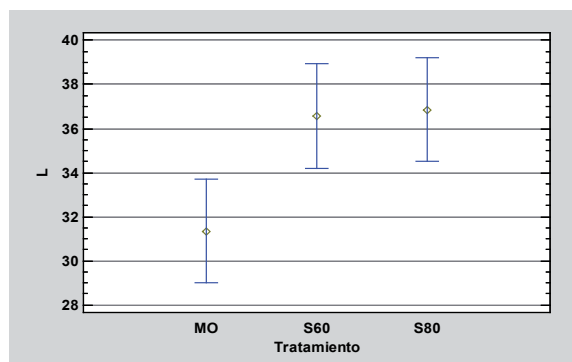


Figura 4: Comparación de los parámetros de color “L*”, “a*” y “b*” entre las cápsulas secadas en distintas condiciones.

Respecto a los parámetros “L*”, “a*” y “b*” se puede mencionar que las cápsulas secadas a 60 y 80° C no mues-

tran variaciones estadísticamente significativas entre ellas mientras que, en el secado con microonda, se observa que muestran valores significativamente mayores en los parámetros “a*” y “b*”, y un menor valor de “L*”. Esto significa que las cápsulas tratadas en microonda presentaron una tonalidad marrón más clara respecto al secado convectivo, pudiendo esta diferencia deberse a la elevada velocidad de calentamiento que no provoca cambios significativos en la superficie del alimento cuando se trabaja con tiempos y potencias de microondas adecuados [26] el secado se llevó a cabo mediante la deshidratación osmótica y luego a través del secado combinado (microondas y convección con aire caliente).

Conclusiones

Al encapsular el extracto de yerba mate en una matriz de alginato de calcio, las cápsulas obtenidas presentaron forma esférica irregular y pequeñas porosidades en las superficies. Al determinar las curvas de cinéticas de secado de las cápsulas se observó que en el secado convectivo influyó la temperatura del aire de secado mientras que el tiempo final de secado con microonda fue intermedio al de las dos temperaturas de secado convectivo. Las isothermas de adsorción de las cápsulas, determinadas a 25° C, presentaron formas sigmoideas tipo II y el modelo de GAB mostró el mejor ajuste en el modelado de los datos experimentales en las tres condiciones de secado. Los contenidos de polifenoles presentaron valores entre 20,12 y 19,68 g EAG/100g ms y la capacidad antioxidante entre 20,47 y 19,45 g EAA/100g ms, no se encontraron diferencias significativas entre los diferentes métodos de secado. Se encontró que el consumo de 5 g de cápsulas aportaría 41% de la ingesta diaria recomendada de calcio, encontrándose que el método de secado no influye sobre el mismo. Las cápsulas secadas con microonda presentaron un color marrón más claro y mayor velocidad de rehidratación respecto al secado convectivo. Las cápsulas de extractos de yerba mate obtenidas representan una alternativa para uso como ingrediente funcional pudiéndose incorporar a alimentos (sopas, yogures, otros preparados lácteos) y productos deshidratados que se venden como mezclas (mix de frutas, turrone, etc.).

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACYT) del Paraguay, por la beca otorgada para la realización de esta investigación, también a la Facultad de Ciencias y Tecnología de la Universidad Nacional de Itapúa y Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Misiones por las instalaciones y los equipos otorgados.

Bibliografía

1. Falguera, V.; Aliguer, N. y Falguera, M. *An integrated approach to current trends in food consumption: Moving toward functional and organic products?*, Food Control. 26, N° 2, p. 274–281. 2012.
2. Wootton-Beard, P.C. y Ryan, L. *Improving public health?: The role of antioxidant-rich fruit and vegetable beverages.*, Food Res. Int. 44, N° 10: p. 3135–3148. 2011.
3. Deladino, L.; Anbinder, P.S.; Navarro, A.S. y Martino, M.N. *Encapsulation of natural antioxidants extracted from Ilex paraguariensis.*, Carbohydr. Polym. 71, N° 1: p. 126–134. 2008.
4. López, A.F.; Deladino, L.; Navarro, A.S. y Martino, M.N. *Encapsulación de compuestos bioactivos con alginatos para la industria de alimentos.*, Limentech Cienc. y Tecnol. Aliment. 10, N° 1: p. 18–27. 2012.
5. De Campos, R.M.L.; Hierro, E.; Ordóñez, J.A.; Bertol, T.M.; Terra, N.N. y de la Hoz, L. *Fatty acid and volatile compounds from salami manufactured with yerba mate (Ilex paraguariensis) extract and pork back fat and meat from pigs fed on diets with partial replacement of maize with rice bran.*, Food Chem. 103, N° 4: p. 1159–1167. 2007.
6. Valerga, J.; Reta, M. y Cecilia, M., LWT. *Food Science and Technology Polyphenol input to the antioxidant activity of yerba mate (Ilex paraguariensis) extracts.*, LWT - Food Sci. Technol. 45, N° 1: p. 28–35. 2012.
7. Butiuk, A.P.; Martos, M.A.; Adachi, O. y Hours, R.S. *Study of the chlorogenic acid content in yerba mate (Ilex paraguariensis St. Hil.): Effect of plant fraction, processing step and harvesting season.*, J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants. 3, N° 1: p. 27–33. 2016.
8. Fang, Z. y Bhandari, B. *Encapsulation of polyphenols - A review.* Trends Food Sci. Technol. 21, N° 10: p. 510–523. 2010.
9. Munin, A. and F. Edwards-Lévy. *Encapsulation of natural polyphenolic compounds; a review.* Pharmaceutics. 3, N° 4: p. 793–829. 2011.
10. Thea, M.E.; Bohaczenko, E. A.; Schmalko, M.E. *“Variación del contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de la yerba mate según diferentes tipos de estacionamiento,”* Actas del XIV Congreso CYTAL de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Rosario, Argentina, pp. 1–6, 2012..
11. Krokida, M.K. y Marinos-Kouris, D. *Rehydration kinetics of dehydrated products.*, J. Food Eng. 57, N° 1: p. 1–7. 2003.
12. Pilosof Boquet, A.R. y Bartholoma, G. *Kinetics of Water Uptake by Food Powders.* FOOD Sci. 50, N° 7985: p. 278–279. 1985.
13. Schmalko, M.E.; Acuña, M.G. y Scipioni, G.P. *The Use of Maltodextrin Matrices to Control the Release of Minerals from Fortified Mate.* International Journal of Food Studies. 1: p. 17–25. 2012.
14. Fundueanu, G.; Nastruzzi, C.; Carpov, A.; Desbrieres, J. y Rinaudo,

- M. *Physico-chemical characterization of Ca-alginate microparticles produced with different methods.*, Biomaterials. 20, N° 15: p. 1427–1435. 1999.
15. George, M. y Abraham, T.E. *Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan - a review.*, J. Control. Release. 114, N° 1: p. 1–14. 2006.
 16. Doymaz, I. *Drying characteristics and kinetics of okra.*, J. Food Eng. 69, N° 3: p. 275–279. 2005.
 17. Rodríguez, A. *Ósmosis Directa-Microondas y Secado Convectivo Por Aire Caliente- Microondas Para La Deshidratación De Frutos Del Bosque.*, Tesis doctoral en ingeniería. Universidad Nacional de La Plata. 2014.
 18. Correa Cuevas, L.P. y Hernández Baltazar, E. *El uso de las microondas en la industria farmacéutica.*, Rev. Mex. Ciencias For. 13, N° 2: p. 112. 2012.
 19. Rubiano, H.J.; Cárdenas, K. y Velásquez, J. *Evaluación de las propiedades termodinámicas y térmicas del d-limoneno encapsulado.*, Rev. U.D.C.A Actual. Divulg. Científica. 18, N° 2: p. 425–434. 2015.
 20. Lewicki, P. *The applicability of the GAB model to food water sorption isotherms.*, Int. J. food Sci. Technol. 32, N° 1945: p. 553–557. 1997.
 21. Brunauer, W.E.D. y Deming, L.S. *“On a Theory of the van der Waals Adsorption of Gases”*, Journal of the American Chemical Society, vol. 62, N° 6, p. 1723, 1940.
 22. Escalada, G.; Brumovsky, L.A. y Hartwig, V.G. *Influencia de la zona de cultivo y procesamiento de la yerba mate sobre su contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante.* Cienc. y Tecnol. N° 15: p. 66–74. 2011.
 23. García-mogollón, C. y Romero-barragán, A. A. *Capacidad de Rehidratación y Cambio de Color de Yuca (Manihot esculenta crantz) Deshidratada en Microondas Rehydration Capacity and Color Change of Cassava (Manihot esculenta crantz) Dried in Microwave.* Inf. tecnol. 27, N° 1: p. 53–60. 2016.
 24. Cabo Masip, T.; Alentado Morell, N. y Dalmau Serra, J. *Nuevas recomendaciones diarias de ingesta de calcio y vitamina D: Prevención del raquitismo nutricional.*, Acta Pediatr. Esp. 66, N° 5: p. 233–236. 2008.
 25. Binaghi, M.J.; Pellegrino, N.R. y Valencia, M.E. *Bioaccesibilidad de minerales en infusiones de yerba mate (Ilex paraguariensis St.) y en mezclas con leche fortificadas con hierro.*, Archivos Latinoamericanos de nutrición. 61 (1): p- 81-86. 2011.
 26. Della Rocca, P. *Secado de alimentos por métodos combinados: Deshidratación osmótica y secado por microondas y aire caliente.*, Tesis de maestría en tecnología de alimentos. Universidad Tecnológica Nacional. 2010.

Recibido: 29/08/2018.

Aprobado: 22/02/2019.

Extracción de pectina a partir de albedo de limón con una Poligalacturonasa de *Wickerhamomyces Anomalus*

Extraction of pectin from lemon albedo with a polygalacturonase of *Wickerhamomyces Anomalus*

Silvana A. Maidana^{1,*}, Claudia L. Danovich¹, Emilce R. Zubreski¹, María A. Martos¹

1- Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones (UNaM). Ruta 12, km 7,5, Miguel Lanús, Misiones, Argentina.

* E-mail: silvana.a.maidana@gmail.com

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de diferentes factores en la extracción de pectina a partir de albedo de limón, mediante el extracto enzimático con actividad poligalacturonasa de *Wickerhamomyces anomalus* (WA cepa 110), una levadura autóctona de la provincia de Misiones, Argentina.

El proceso de extracción enzimática de pectina se realizó en frascos Erlenmeyers conteniendo albedo de limón, buffer y el extracto enzimático crudo de WA cepa 110, con agitación (pH 5,0). Los factores evaluados fueron: relación sólido/líquido, temperatura, tiempo y actividad enzimática. El material polimérico se precipitó con etanol y el peso seco del gel obtenido se denominó material insoluble en etanol (MIE).

Se obtuvieron rendimientos de MIE de $35,93 \pm 0,67\%$ (p/p), con una relación sólido/líquido de 1/50, 12,5 mL del EE (actividad PGasa en el medio de reacción: 4,28 UE/mL), 40° C, 4 h y pH 5,0. Este valor fue superior al obtenido utilizando el método químico, lo cual confirma la bondad del proceso enzimático utilizado.

Palabras clave: Extracción; *Wickerhamomyces anomalus*; Poligalacturonasa; Pectina de citrus; Albedo de limón.

Abstract

The objective of the present work was to evaluate the effect of different factors on the extraction of pectin from lemon albedo, using the enzymatic extract with polygalacturonase activity of *Wickerhamomyces anomalus* (WA strain 110), a native yeast from the Province of Misiones, Argentina.

Pectin extraction process was carried out in Erlenmeyer flasks containing lemon albedo, buffer and the crude enzymatic extract of WA strain 110, with agitation (pH 5.0). Factors studied were: solid-liquid ratio, temperature, time and enzyme activity. The soluble polymeric material was precipitated with ethanol and the weight of the dried gel obtained was named as ethanol insoluble material (EIM).

It was obtained a yield of MIE of $35.93 \pm 0.67\%$ (w/w), with a solid / liquid ratio of 1/50, 12.5 mL of EE (PGase activity in the reaction medium: 4.28 UE/mL), 40° C, 4 h, and pH 5.0. This value was higher than that obtained using the chemical method, which confirms the goodness of the enzymatic process used.

Keywords: Extraction; *Wickerhamomyces anomalus*; Polygalacturonase; Citrus pectin; Lemon albedo

Introducción

Las pectinas constituyen un grupo heterogéneo de polisacáridos ácidos de origen vegetal con propiedades de gelificación, estabilización de emulsiones y aporte de fibra nutricional, siendo muy utilizadas en la industria alimenticia para la elaboración de bebidas, mermeladas, productos lácteos, etc. Su precursor es la protopectina, definida como la sustancia péctica insoluble en agua, que origina pectina soluble por despolimerización parcial [1, 2].

Argentina importa toda la pectina consumida en forma de polvo listo para solubilizar, lo cual posee un alto costo para las industrias locales [3].

Para la producción de pectina, se utilizan algunos subproductos de las industrias de jugos de frutas, principalmente cáscaras de cítricos y orujo de manzana. A escala industrial, la pectina se extrae mediante procesos físico-químicos, basados en la hidrólisis ácida de tejidos vegetales. Estos procesos requieren altas temperaturas, lo que demanda un elevado gasto energético además de generar desechos peligrosos para el medio ambiente [4, 5].

Desde hace algunos años se han reportado diversos trabajos relacionados con el uso de técnicas enzimáticas para la extracción de pectina, las que emplean condiciones de extracción mucho más suaves que los métodos químicos. Sin embargo, son escasos los estudios realizados que

evalúan la optimización de las condiciones de operación de dichos procesos [2, 6 - 8].

Los procedimientos enzimáticos para la extracción de pectina, utilizan enzimas de origen microbiano denominadas enzimas solubilizadoras de pectina o protopectinasas (PPasas).

Las PPasas tienen la capacidad de hidrolizar restringidamente la protopectina presente en los tejidos vegetales, liberando pectina soluble y conduciendo al ablandamiento del tejido vegetal (proceso de maceración) [2, 9 - 15]. La actividad PPasa se considera como una característica particular de algunas poligalacturonasas (PGasas), que tienen una afinidad particularmente alta por sustratos insolubles [16]. La primer PPasa reportada se encontró en el sobrenadante de un cultivo de *Geotrichum klebahnii* ATCC 42397, que fue identificada como una endo-poligalacturonasa (endo-PGasa) [10].

Wickerhamomyces anomalus es una levadura que, al crecer en medio líquido, secreta una única enzima con actividad PGasa. La enzima fue purificada, caracterizada e identificada como una endo-PGasa (EC 3.2.1.15), con un peso molecular de 43 kDa (determinado por SDS-PAGE). La misma exhibió una actividad máxima a pH 4,2, permaneciendo estable en un 86% de la actividad enzimática máxima en un rango de pH entre 3,5 a 6,0 y hasta los 50° C durante 10 h [17, 18]. En estudios previos se determinó que esta enzima posee, a diferencia de otras PGasas, actividad PPasa, y fue capaz de macerar tejidos vegetales [19].

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de diferentes factores en la extracción de pectina a partir de albedo de limón, mediante el extracto enzimático con actividad poligalacturonasa de *Wickerhamomyces anomalus* (WA cepa 110).

Materiales y Métodos

Microorganismo, mantenimiento y conservación

En el presente trabajo se utilizó una levadura autóctona de la Provincia de Misiones, Argentina, aislada a partir de cáscaras de frutas cítricas en el laboratorio de Microbiología de Alimentos y Biotecnología “Dr. Fernando O. Benassi”, de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, UNaM, Misiones, Argentina. Esta levadura fue identificada previamente por métodos moleculares como *Wickerhamomyces anomalus* en el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Centro Regional Mendoza, San Juan [20]. La cepa (Wa cepa 110) fue mantenida en estrías de un medio de mantenimiento, a 5° C, hasta 2 meses y conservada por liofilización.

Para la conservación por liofilización, se realizó una suspensión de células, a partir de estrías jóvenes (24 h) de la levadura, en una solución crioprotectora de leche descremada (Nestlé) al 10% (p/v) e inositol trifosfato (Anedra) al

5% (p/v). La suspensión fue congelada a - 80° C y posteriormente liofilizada. Al final del proceso, las ampollas con el liofilizado fueron selladas y conservadas a 5° C. Cuando fue necesario, una ampolla que contenía la levadura fue recuperada luego de re-hidratación con agua estéril, seguida de cultivo en estrías de medio de mantenimiento.

Medios de cultivos

a) *Medio de mantenimiento* (YM - g/L): extracto de levadura (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo, EEUU), 5; Triptona (Difco-Becton Dickinson & Co., Sparks, MD, EEUU), 5; Glucosa (Britania, Buenos Aires, Argentina), 10; Agar (Britania), 15; pH 5,0.

b) *Medio de fermentación* (g/L): glucosa (Britania), 10; pectina de citrus (Parafarm, Buenos Aires, Argentina), 5; (NH₄)₂SO₄, 3; KH₂PO₄, 1; MgSO₄, 0,5; CaCl₂, 0,1; solución de vitaminas (1000 ×), 1 mL/L; solución de aminoácidos (100 ×), 10 mL/L; solución de microelementos (1000 ×), 1 mL/L; pH 5,0 [21].

Solución (1000 ×) *de vitaminas* (Sigma) (μg/L): biotina, 2; pantotenato de Ca, 400; ácido fólico, 2; inositol, 2000; niacina, 400; ácido *p*-aminobenzoico, 200; piridoxina, 400; riboflavina, 200; tiamina, 400.

Solución (100 ×) *de aminoácidos* (Sigma) (mg/L): histidina, 10; metionina, 20 y triptófano, 20.

Solución de microelementos 1000 × (μg/L): CuSO₄·5H₂O, 40; FeCl₃·6 H₂O, 200; MnSO₄·H₂O, 400; NaMoO₄·2H₂O, 200; ZnSO₄·7H₂O, 400.

Todos los componentes del medio fueron autoclavados (121° C, 15 min), excepto las vitaminas, que se esterilizaron por separado a través de un papel de filtro celulósico de 0,22 μm de diámetro de poro (Sartorius Stedim Biotech, Alemania).

Producción del extracto enzimático

Precultivos: se inocularon tres frascos Erlenmeyers de 500 mL que contenían 95 mL del medio de fermentación con 5 mL de inóculo (DO₆₂₀ = 0,96) provenientes de un cultivo joven (24 h) de Wa cepa 110, en medio de mantenimiento. Los mismos se incubaron a 30° C con agitación (180 rpm), durante 20 h. Al cabo de este tiempo, las células contenidas en los cultivos (300 mL) se cosecharon por centrifugación, el sobrenadante se descartó y las células se resuspendieron en 100 mL de agua destilada estéril (300 mL).

Fermentación: para el proceso fermentativo se utilizó un biorreactor de 5 L de capacidad (New Brunswick Scientific Co., Edison, EEUU) que contenía 2,7 L de medio de fermentación, el que fue inoculado con la suspensión de levadura de los precultivos. El cultivo se realizó a 30° C, hasta 10 h, con agitación (500 rpm) y suministrándole aire estéril a un caudal de 2,82 L/min. Al finalizar el cultivo, el fermento fue centrifugado para remover las células de levaduras. El sobrenadante crudo libre de células fue denominado extracto

enzimático (EE) y se mantuvo a -18°C hasta su utilización como fuente de enzima extracelular [17, 21].

La actividad PGasa del EE se midió por determinación de los grupos reductores liberados, a partir de una solución de ácido poligalacturónico (Sigma), en una solución tampón de acetato sódico/ácido acético (BAC, 0,2 M, pH 5,0), mediante el método de Somogy-Nelson. La reacción se llevó a cabo a 37°C durante 10 minutos. Se realizó una curva de calibración con ácido galacturónico (AG, Sigma) como estándar. Una unidad PGasa se definió como la cantidad de enzima que liberó $1\ \mu\text{mol}$ de AG por minuto bajo las condiciones de ensayo [10, 22, 23].

Tratamiento de la materia prima

Para la obtención de la materia prima, se seleccionaron limones frescos de la variedad Eureka, adquiridos en un local comercial en la ciudad de Posadas, Misiones, Argentina. Los frutos fueron lavados y posteriormente se extrajo mecánicamente el mesocarpio o albedo. El albedo fue tratado con calor (15 min, a 100°C), simulando un proceso de escaldado, para inactivar enzimas endógenas, principalmente pectinesterasas (PE), las cuales desmetoxilan y despolimerizan las pectinas [9]. Posteriormente el material vegetal fue lavado, para eliminar sustancias pécticas solubles, secado, molido y tamizado (45 mesh), denominando a este material como albedo tamizado (AT). El producto deshidratado se almacenó en frascos de polietileno al abrigo de la luz y de la humedad [24].

Extracción enzimática de pectina

El proceso de extracción se realizó en frascos Erlenmeyers con una relación sólido/líquido (S/L) 1/40, constituida por 1 g del material vegetal, 20 mL de buffer acetato de sodio/ácido acético (0,2 M, pH 5,0) y 20 mL del EE ($19,57 \pm 0,55\ \text{UE/mL}$), a 30°C , en baño termostatzado rotatorio (150 rpm) por 6 h. Luego de la incubación, la totalidad de cada Erlenmeyer se centrifugó a $2350 \times g$, durante 10 min [9]. El material polimérico del sobrenadante se precipitó con 2 volúmenes de etanol frío al 96% (v/v) y se mantuvo a 5°C durante 2 h. El gel obtenido fue lavado con etanol al 70% (v/v), centrifugado a $2350 \times g$, durante 15 min, descartándose el sobrenadante y secado en estufa a 45°C hasta peso constante. El material polimérico obtenido fue denominado material insoluble en etanol (MIE). El rendimiento en la extracción de pectina se reporta como g de MIE por cada 100 g de albedo seco [2, 25-28]. En todos los casos, se realizaron blancos con la enzima inactivada.

Efecto de diferentes factores sobre el proceso de solubilización de pectina

En la presente etapa del trabajo se estudió el efecto de diferentes factores sobre la extracción de pectina a partir de

albedo de limón, con el EE de Wa cepa 110. Los estudios se realizaron mediante la metodología de “un factor por vez”, mientras se mantenían constantes los demás factores [29, 30]. En todos los casos, se siguió el protocolo de extracción descripto anteriormente.

Efecto de la relación sólido/líquido: se evaluó el rendimiento de extracción de pectina, empleando diferentes relaciones S/L (% p/v): 1:20, 1:40, 1:50 y 1:60, manteniendo constante la actividad de la enzima en la mezcla de reacción.

Efecto de la temperatura y el tiempo: considerando que en estudios previos se demostró que la enzima permanece estable hasta los 50°C , durante 10 h de incubación [18], se evaluó la solubilización enzimática de pectina a diferentes temperaturas y hasta los 50°C , en función del tiempo de reacción.

Influencia de la actividad enzimática: se estudió la posibilidad de utilizar menor concentración del EE, a fin de disminuir los costos del proceso. Para ello se realizó la solubilización de pectina utilizando diferentes volúmenes del EE, pero manteniendo la misma relación S/L.

Análisis estadístico: Las experiencias se realizaron por triplicado y se tomaron para los cálculos los valores promedios. Los resultados se analizaron mediante ANOVA simple, aplicando el programa estadístico Stat Graphics [31].

Extracción por Método Químico

Para la extracción química de pectina se suspendieron 2,5 g de albedo de limón en 60 mL de agua destilada, se ajustó el pH a 2,0 con ácido clorhídrico 1 N, la mezcla se calentó a 90°C en baño de agua termostatzado, durante 60 min, agitando a intervalos frecuentes. La mezcla resultante se enfrió, centrifugó y el material polimérico del sobrenadante se precipitó con etanol y se prosiguió según se describió anteriormente [32 - 34].

Determinaciones analíticas

Contenido de ácido galacturónico (AG) en el MIE: se determinó por el método colorimétrico descripto por Melton y Smith (2001) [35]. En este procedimiento se emplea el reactivo *m*-hidroxidifenilo (mHDP), en presencia de ácido sulfámico (H_3NSO_3) para evitar la interferencia por azúcares neutros. La absorbancia de los tubos se midió en un espectrofotómetro (Beckman DU 640, a 37°C) a 525 nm. El contenido de AG indica la pureza de la pectina extraída y no debe ser menor al 65% [36].

Grado de esterificación (GE): el GE de una pectina se define como el porcentaje de grupos carboxilos esterificados con metanol (número de moles de metanol por 100 moles de AG). La determinación del GE de la pectina obtenida se efectuó empleando el método titulométrico [2, 37].

Resultados y Discusión

La extracción enzimática de polisacáridos de tejidos vegetales, es un proceso de catálisis heterogénea, donde una enzima soluble actúa sobre un sustrato insoluble. Diferentes factores influyen en este tipo de reacciones. En base a la bibliografía, en el presente trabajo se estudió el efecto de la relación sólido/líquido, concentración de enzima, temperatura y tiempo de hidrólisis, sobre la extracción de pectina a partir de albedo de limón, con el EE de Wa cepa 110 [2, 38].

Los estudios se realizaron mediante la metodología de “un factor por vez”, mientras se mantenían constantes los demás factores, a fin de evaluar el efecto de ese único nutriente sobre el proceso de extracción de pectina [18, 29, 30].

Efecto de la relación sólido/líquido

En la Tabla 1, se presenta el análisis de rangos múltiples correspondiente al efecto de la relación S/L sobre la capacidad de solubilización de pectina, por el EE de Wa cepa 110 y en la Figura 1, el gráfico de comparación de medias. Los resultados se presentan como porcentaje del rendimiento de pectina obtenido bajo las siguientes condiciones de reacción no optimizadas: relación S/L 1/40 (p/p), 30° C, 6 h y 20 mL EE, el cual corresponde a un rendimiento del 100%.

Tabla 1: Análisis de rangos múltiples para el efecto de la relación S/L sobre el porcentaje de extracción de pectina.

Relación	Cantidad	Media	Grupos homogéneos
1/20	3	67,155	X
1/40	3	100,000	X
1/50	3	107,506	X
1/60	3	113,230	X
Contraste		Diferencias	
1/20-1/40		*-12,1067	
1/20-1/50		*-14,8733	
1/20-1/60		*-16,9833	
1/40-1/50		*2,76667	
1/40-1/60		*-4,87667	
1/50-1/60		-2,11	

* denota diferencia significativa ($p < 0,05$).

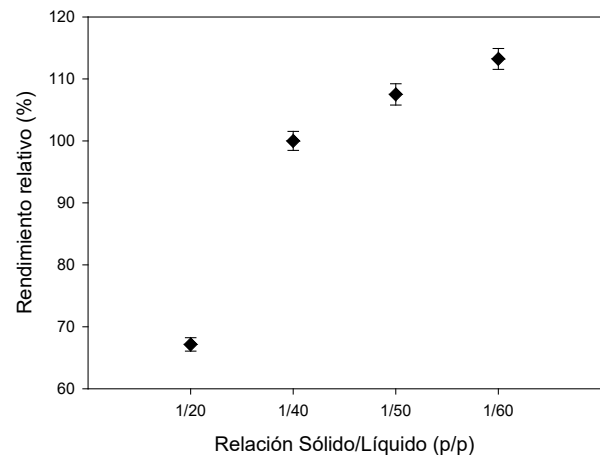


Figura 1: Efecto de la relación S/L en el rendimiento de extracción de pectina con el extracto enzimático de Wa cepa 110. Condiciones de extracción: 30° C, 6 h, 20 mL EE.

El análisis de varianza determinó que la relación S/L influyó significativamente ($p < 0,05$) en el proceso de extracción de pectina. El análisis de rangos múltiples (Tabla 1), indicó que la diferencia se observó entre las relaciones 1/20, 1/40 y 1/50, no habiendo diferencia entre las relaciones 1/50 y 1/60. En la Figura 1 se observa que los mayores rendimientos se obtuvieron con una relación S/L de 1/50 o 1/60, los cuales fueron superiores respecto al rendimiento obtenido bajo condiciones no optimizadas. En base a los resultados obtenidos en esta etapa, en las sucesivas experiencias se empleó la relación S/L 1/50.

El efecto de la relación S/L ha sido estudiado por varios autores para diferentes materias primas. Una disminución en la relación S/L, aumenta el rendimiento de la extracción. Es necesario encontrar una relación adecuada entre el solvente y la materia prima a ser extraída. Una proporción alta da lugar a extractos demasiado diluidos y aumenta los costos del posterior secado y si es muy baja no habrá buena difusión [39-42].

Efecto de la temperatura y el tiempo

En la Figura 2 se presenta la cinética de extracción de pectina a diferentes temperaturas y, en la Figura 3, el rendimiento de MIE a 35 y 40° C durante 4 y 6 h de reacción.

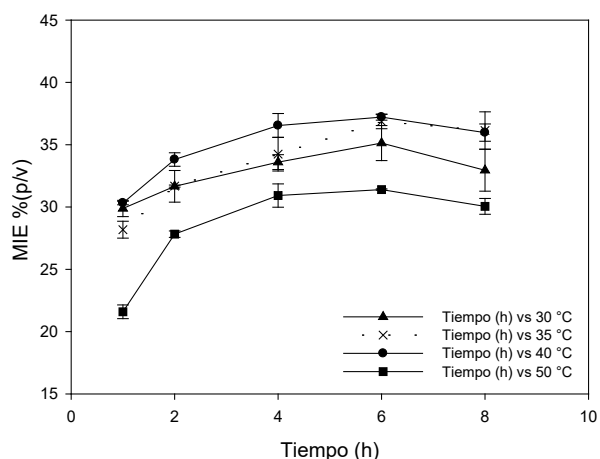


Figura 2: Cinética de extracción de pectina a 30, 35, 40 y 50 °C con el extracto enzimático de Wa cepa 110. Condiciones de extracción: relación S/L: 1/50, 25 mL EE.

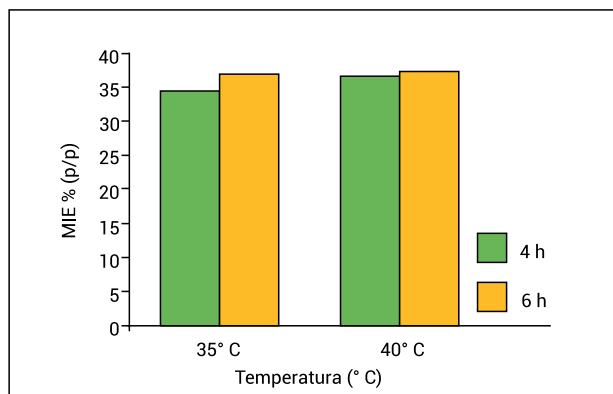


Figura 3: Rendimiento del MIE a 35 y 40 °C durante 4 y 6 h de reacción.

Como se observa en la Figura 2 el rendimiento de extracción de pectina aumentó hasta un cierto tiempo, el cual dependió de cada temperatura, y luego permaneció constante. Los rendimientos obtenidos a 35 y 40 °C fueron superiores a los obtenidos a 30 y 50 °C a todos los tiempos. A 35 °C, el rendimiento de extracción de pectina alcanzó un valor máximo de $36,86 \pm 0,57\%$ (p/p) a las 6 h de reacción y a 40 °C de $36,54 \pm 0,96\%$ (p/p), a las 4 h (Fig. 3). El análisis de varianza determinó que no hubo diferencia significativa ($p < 0,05$) entre los rendimientos de extracción a 35 °C-6 h y 40 °C-4 h.

Se obtuvieron blancos de reacción de $9,33 \pm 0,34\%$ (p/p) a 30 y 40 °C, mientras que a 50 °C fueron de $17,95 \pm 0,39\%$ (p/p). Los blancos de la reacción enzimática, mostraron una solubilización de pectina significativa, la cual fue superior a 50 °C. Contreras Esquivel (2003) [43] reportó que la solubilización observada en los blancos, se puede deber a un proceso de extracción química de la pectina, en las condiciones de reacción. Debido a ello, informa que existe un efecto sinérgico en este tipo de procesos, es decir entre la catálisis química (blanco) y la enzimática, siendo superior, en todas las condiciones, el último efecto.

Se han reportado rendimientos de extracción de pectina de albedo de limón por métodos enzimáticos de 27 g de

pectina/100 g de material seco, empleando PGasa de *A. kawachii* y de 17,6 g de pectina/100 g de material seco con PGasa de *A. niger* [42]. (Zapata Zapata y col. 2009) [2], reportaron rendimientos del 27% (p/p), utilizando protopectinasa-SE producida por el hongo levaduriforme *Geotrichum klebahnii* y del 10% (p/p) para los blancos. (Vasco-Correra y Zapata Zapata 2017) [44], al evaluar la extracción de pectina de maracuyá utilizando una PPasa de *G. klebahnii* ATCC 42397, informaron rendimientos de extracción de pectina entre 17% y 25% (p/p), 8 g/100 g de cáscara seca donde los mayores rendimientos se obtuvieron a 37 °C, mientras que los menores a 44 °C, atribuyéndolo a la inestabilidad de la enzima a esta última temperatura.

Efecto de la actividad enzimática

En la Figura 4 se presentan los rendimientos de pectina (% MIE) obtenidos con los diferentes volúmenes del EE de Wa cepa 110, manteniendo constante la relación S/L (1/50), a 40 °C y 4 h de incubación.

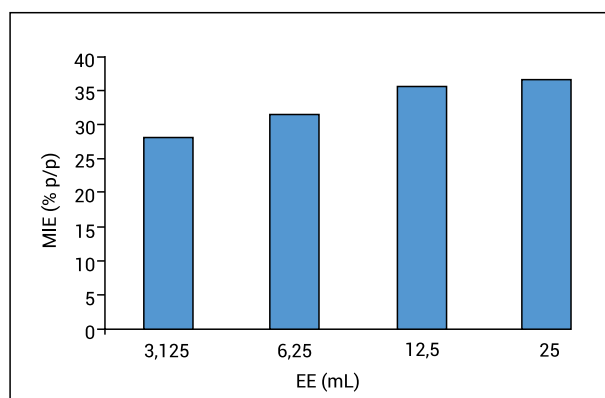


Figura 4: Rendimiento de MIE (% p/p) con distintas concentraciones del EE producido por Wa cepa 110. Condiciones de reacción: relación S/L 1/50; 40 °C, 4 h.

El análisis de varianza indicó que el volumen del EE utilizado en el proceso de extracción, influyó significativamente ($p < 0,05$) en el rendimiento del proceso extractivo. Se obtuvo un aumento en el rendimiento de MIE desde un valor de $28,13 \pm 0,81\%$ (p/p) con 3,125 mL de EE (actividad PGasa en el medio de reacción: 1,22 UE/mL), hasta un valor de $35,9 \pm 0,67\%$ (p/p) con 12,5 mL de EE (actividad PGasa en el medio de reacción: 4,28 UE/mL). No hubo diferencia significativa en los valores de rendimiento al utilizar 12,5 mL o 25 mL de EE.

Extracción de pectina por el método químico y su caracterización

En la Tabla 2 se compara el rendimiento de extracción de pectina a partir de albedo de limón, en las condiciones seleccionadas (relación S/L 1/50, 40 °C, 4h, 12,5 mL EE), utilizando PGasa de Wa cepa 110, respecto al rendimiento de extracción obtenido mediante el método químico.

Tabla 2: Rendimientos de MIE por método químico y enzimático

Método	MIE% (p/p)
EE de Wa cepa 110	35,93±0,67
Químico	24,17±0,99

Condiciones de extracción enzimática: relación S/L 1/50; 12,5 mL del EE, 40° C, 4 h.

El rendimiento de extracción de pectina por el método químico fue de 24,17±0,99% (p/p).

Contreras Esquivel (2003) [43] informó rendimientos mediante hidrólisis química del 20,2% (p/p), expresado en gramos de pectina extraída por gramo de albedo seco.

Lo anterior indica un aumento de alrededor del 12% en el rendimiento de extracción de pectina con el EE de Wa cepa 110 respecto al método químico.

La determinación del contenido de AG en el MIE extraído por el **método enzimático** fue de 413,9±20,7 mg/L. Teniendo en cuenta que la pectina es un polisacárido que contiene elevado contenido de AG, mediante la extracción enzimática realizada en este estudio el contenido de AG en el MIE resultó ser del 82,57% (p/p), indicando que la pectina extraída no contiene cantidades elevadas de impurezas [45].

El GE de la pectina obtenida empleando los extractos de Wa cepa 110, fue de 79,100±0,008% (p/p). Este valor indica que se trata de una pectina de alto metoxilo (HM).

El GE constituye una propiedad química muy importante relacionada con la velocidad de gelificación y solidificación de la pectina. Como se trata de una pectina HM, esto implica que puede ser usada en la formulación de productos como jaleas y mermeladas pero no en productos dietéticos (con bajo agregado de azúcar) [44, 46, 47].

Conclusiones

El extracto enzimático de Wa cepa 110, fue capaz de extraer pectina de citrus a partir de albedo de limón, a temperaturas y tiempos moderados. El rendimiento del material insoluble en etanol (MIE) obtenido fue de 35,93±0,67% (p/p), con una relación S/L de 1/50, 40° C, 4 h de incubación y 12,5 mL de EE (actividad PGasa en el medio de reacción: 4,28 UE/mL). Este valor fue superior al obtenido utilizando el método químico, lo cual confirma la bondad del proceso enzimático utilizado. La pectina extraída presentó un GE de 79,100±0,008% (p/p), lo que indica que se trata de una pectina de alto metoxilo (HM).

La extracción de pectina por vía enzimática constituye una tecnología innovadora, alternativa al método tradicional de extracción por vía química, con las ventajas operativas y económicas que ello representa y en condiciones amigables con el medio ambiente.

Agradecimientos

Esta investigación fue parcialmente respaldada por la Secretaría de Políticas Universitarias (SPU) y la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales de la Misiones Nacionales de la Universidad. La Ing. Silvana A. Maidana posee una Beca Interna Doctoral, otorgada por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Los autores desean agradecer a la Ing. Vanesa P. Esteche y a la estudiante Valeria Fernández Müller, ambas becarias del Comité Ejecutivo de Desarrollo e Innovación Tecnológica (CEDIT- Misiones), por haber colaborado en el desarrollo de los procesos fermentativos.

Referencias

1. Baci, J.; Jördening H. *Kinetics of galacturonic acid release from sugar beet pulp*, Enzyme and Microbial Technology. 34: p. 505-512. 2005.
2. Zapata Zapata, A.D; Escobar, C.; Cavalitto, S.F.; Hours, R.A. *Evaluación de la capacidad de solubilización de pectina de cáscara de limón usando protopectinasa-SE*. Revista de la Facultad de Química Farmacéutica. 16: p. 67-74. 2009.
3. International Trade Center. *Product country graph*. 2016. [Online]. <http://www.trademap.org/>. (Consulta: 28 Nov. 2018).
4. May, C. D., *Industrial pectins: sources, production and applications*, Carbohydr. Polym. 12: p.79–99. 1990.
5. Liew, S. Q.; Chin, N. L.; Yusof, Y. A.; Sowndhararajan, K. *Comparison of acidic and enzymatic pectin extraction from passion fruit peels and its gel properties*, J. Food Process Eng. 39: p. 501–511. 2016.
6. Contreras-Esquivel, J. C.; Hours, R. A.; Aguilar, C. N.; Reyes-Vega, M. L.; Romero, J. *Microbial and enzymatic extraction of pectin: a review*, Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 47: p. 208-216. 1997.
7. Schroder, R.; Christopher, J.C.; Sharrock, K.; Hallett, I.C.; MacRae, E.A. *Pectins from the albedo of immature lemon fruitless have high water binding capacity*, J Plant Physiol. 161 (4): p. 371-379. 2004.
8. Cavalitto, S. F., & Mignone, C. F. *Application of factorial and Doehlert designs for optimization of protopectinase production by a Geotrichum klebahnii strain*, Process Biochem. 42: p. 175–179. 2007.
9. Sakamoto, T.; Hours, R.A., Sakai, T. *Enzymatic pectin extraction from protopectins using microbial protopectinases*, Process Biochem. 30 (5): p. 403-409. 1995
10. Cavalitto, S.F.; Hours, R.A.; Mignone, C.F. *Growth and protopectinase production of Geotrichum klebahnii in batch and continuous cultures with synthetic media*, J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 25: p. 260-265. 2000.
11. Kim, D.H.; Kim, D.G.; Lee, D.Y.; Kim, K.E.; Kim, C.W. *Physicochemical characterization of pectin extracted from cheju*

- mandarin (*Citrus unshiu*) peels with citric acid, *Food Sci Biotech.* 9 (2): p. 95-98. 2000.
12. Jayani, R.S.; Saxena, S.; Gupta, R. *Microbial Pectinolytic Enzymes*, *Process Biochem.* 40: p. 2931-2944. 2005.
 13. Tari, C.; Göğüs, N.; Tokatli, F. *Optimization of biomass, pellet size and polygalacturonase production by Aspergillus sojae ATCC 20235 using response surface methodology*, *Enzyme and Microbial Technology.* 40 (5): p.1108-1116. 2007.
 14. Contreras-Esquivel, J. C.; Aguilar, C. N.; Montanez, J. C.; Brandelli, A.; Espinoza-Perez, J.D.; Renard, C. M. G. C. *Pectin from passion fruit fiber and its modification by pectinmethylesterase*, *J. Food Science and Nutrition.* 15: p. 57-66. 2010.
 15. Franchi, M.L.; Marzalletti, M.B.; Pose, G.N.; Cavalitto, S.F. *Evaluation of enzymatic pectin extraction by a recombinant polygalacturonase (PGI) from apples and pears pomace of argentinean production and characterization of the extracted pectin*. *J. Food Process Technol.* 5 (8): p. 1-4. 2014.
 16. Cavalitto, S. F.; Hours, R. A.; Mignone, C. F. *Quantification of protopectinase-SE, an endopolygalacturonase with pectin-releasing activity from Geotrichum klebahnii*, *Biotechnol. Techniques.* 13: p. 385-390. 1999.
 17. Martos, M.A.; Zubreski, E.R.; Garro, O.A.; Hours, R.A. *Production of pectinolytic enzymes by the yeast Wickerhamomyces anomalus isolated from citrus fruits Peels*, *Biotechnol. Res.Int.* p. 1-7. 2013b.
 18. Martos, M. A.; Butiuk, A.P.; Rojas, N.L.; Hours, R.A. *Purification and characterization of a polygalacturonase produced by Wickerhamomyces anomalus*, *Braz. Arch. Biol. Technol.* 57(4): p. 587-594. 2014b.
 19. Zubreski, E.R., Ms.Sc. Thesis: *Aislamiento de Wickerhamomyces anomalus una levadura productora de poligalacturonasa con capacidad macernate de tejidos vegetales*. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones. 2013.
 20. Martos, M.A.; Zubreski, E.R.; Combina, M.; Garro, O.A.; Hours, R.A. *Isolation of a yeast strain able to produce a polygalacturonase with maceration activity of cassava roots*, *Food Sci. Technol.* 33(2): p. 332-338. 2013a.
 21. Martos, M.A.; Butiuk, A.P.; Rojas, N.L.; Hours, R.A. *Batch culture of Wickerhamomyces anomalus in a lab scale bioreactor for poligalacturonase production*, *Rev. Colomb. Biotecnol.* 16(2): p. 68-73. 2014a.
 22. Herbert, D.; Phipps, P.J.; Strange, R.E. *Chapter III Chemical Analysis of Microbial Cells*. *Methods in Microbiology*, 5:p. 209-344. 1971.
 23. Ferreyra, O.A.; Cavalitto, S.F.; Hours, R.A.; Ertola, R.J. *Influence of trace elements on enzyme production: protopectinase expression by a Geotrichum klebahnii strain*. *Enzyme Microb. Technol.* 31(4):p. 498-504. 2002.
 24. Soares Junior, M.S.; Reis, R.C.; Bassinello, P.Z.; Lacerda, D.B.C.; Koakuzu, S.N.; Caliar, M. *Qualidade de biscoitos formulados com diferentes teores de farinha de casca de pequi*, *Pesquisa Agropecuária Tropical.* 39 (2): p. 98-104. 2009.
 25. Contreras-Esquivel, J.C.; Hours, R.A.; Voget, C.E.; Mignone, C.F. *Aspergillus kawachii produces an acidic pectin releasing enzyme activity*, *J. Biosci. Bioeng.* 88: p. 48-52. 1999.
 26. Munhoz, C.L.; Sanjinez-Argandona, E.J.; Soares-Junior, M. S. *Extração de pectina de goiaba desidratada*, *Ciência e Tecnologia de Alimentos.* 30: p. 119-125. 2010.
 27. Dos Santos Siqueira, B.; Dias Alves, L.; Vasconcelos, N.; Damiani, P.; Soares, J. M. *Pectina extraída de casca de pequi e aplicação em geléia light de manga*, *Rev. Bras. Frutic.* 34 (2): p. 560-567. 2012.
 28. Canteri, M.H.G.; Moreno, L.; Wosiacki, G.; Scheer, A. *Pectina: da- Matéria ao Produto Final*, *Polímeros.* 22 (2): p. 149-157. 2012.
 29. Rehman, HU, Qader, SAU, Aman, A, 2012. *Polygalacturonase: production of pectin depolymerising enzyme from Bacillus licheniformis KIBGE IB-21*. *Carbohydr. Polym.* 90 (1), 387-391.
 30. Embaby, A. M.; Masoud, A. A.; Marey, H.S.; Shaban N.Z.; Ghonaim, T.M. *Raw agro-industrial orange peel waste as a low cost effective inducer for alkaline polygalacturonase production from Bacillus licheniformis SHG10*. *SpringerPlus.* 3: p. 327. 2014.
 31. Stat Graphics. *Centurión XV*, Statpoint Technologies, Inc., Warrenton, VA, USA, 2009.
 32. Royo-Iranzo, J.; Miralles, M.C.; Claramunt, P. *Preparación de corteza de naranja para la obtención de pectina a partir de dos variedades cultivadas en España*. *Rendimiento y calidad del producto*. *Agroquímica Tecnología de Alimentos.* 15: p. 539-546. 1975.
 33. Normah, O.; Ku Hasnah, K. A. *Pectin content of selected local fruit by-products(Kandungan pektin dalam hasil sampingan buah-buahan tempatan terpilih)* *J. Trop. Agric. and Fd. Sc.* 28(2):p. 195-201. 2000.
 34. Rojas, N.L.; Cavalitto, S.F.; Mignone, C.F.; Hours, R.A. *Role of PPase-SE in Geotrichum klebahnii, a yeast-like fungus able to solubilize pectin*. *Electron. J. Biotechnol.* 11 (1):p. 1-8. 2008.
 35. Melton, L.D.; Smith, B.G. *Determination of the uronic acid content of plant cells walls using a colorimetric assay*. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*: E3.3.1-E3.3.4. 2001.
 36. Food Chemicals Codex. FCC. *Revised Monograph- Pectins*. Estados Unidos. 1996. Disponible en: books.nap.edu/html/fcc/pectins.pdf.
 37. Singthong, J.; Cui, S.W.; Ningsanond, S.; Goff, H.D. *Structural Characterization, degree of esterification y some gelling properties of Krueo Ma Noy (Cissampelos pareira) pectin*, *Carbohydr. Polym.* 58 (4): p. 391-400. 2004.
 38. Sit, N.; Agrawal, U.S.; Deka, S.C. *Effect of enzyme concentration, addition of water and incubation time on increase in yield of starch from potato*, *J. Food Sci. Technol.* 51(5): p. 1011-1015. 2014.
 39. Cacace, J.E.; Mazza G. *Optimization of extraction of antho-*

- cyanins from black currants with aqueous ethanol*, J. Food Sci. 68(1): p. 240-248. 2003.
40. Herodez, S. S.; Hadolin, M.; Skerget, M.; Knez, Z. *Solvent extraction study of antioxidants from Balm (Melissa officinalis L.) leaves*, Food Chem. 80 (2). p. 275-282. 2003.
41. Pinelo, M.; Del Fabbro, P.; Marzocco, L.; Nuñez, M. J.; Vicoli, M. C. *Optimization of continuous phenol extraction from Vitis vinifera byproducts*, Food Chem. 92: p. 109-117. 2005.
42. Spigno, G.; Tramelli, L.; De Faveri, D.M. *Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics*, J. Food Eng. 81: p. 200-208. 2007.
43. Contreras Esquivel, J.C. *Tesis Doctoral: Purificación y caracterización de poligalacturonasas de Aspergillus kawachii*, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata. 2003.
44. Vasco-Correa, J.; Zapata Zapata, A.D. *Enzymatic extraction of pectin from passion fruit peel (Passiflora edulis f. flavicarpa) at laboratory and bench scale*, LWT - Food Sci. Technol. 80: p.280-285. 2017.
45. Guidi, A.; Quiroga, M. *Obtención de pectina a partir de la cáscara de maracuyá mediante hidrólisis*, JBC. 7 (21): p. 67-71. 2010.
46. Sinclair, W.B. and Crandall, P.R. *Carbohydrate fractions of lemon peel*, Plant Physiol. 601: p. 681-705. 2008.
47. Malgorzata, D.; Søndergaard, K. M.; Wichmann, J.; Vidal-Melgosa, S.; Willats, W. G.T.; Meyer, A. S.; Mikkelsen, J. D. *Application of enzymes for efficient extraction, modification, and development of functional properties of lime pectin*, Food Hydrocolloids. 40: p. 274-282. 2014.
- Recibido: 17/09/2018.
Aprobado: 04/06/2019.

Optimización de la hidrólisis enzimática de la cascarilla de arroz

Optimisation of the enzymatic hydrolysis of rice husk

Ana María Arismendy^{1,*}, Andrés Felipe Villa Retrepo³, Wilman Alcaraz³, Ester R. Chamorro¹, María C. Area²

1- (UTN-CONICET), French 414, Resistencia, Argentina

2- Programa de Celulosa y Papel, Instituto de Materiales de Misiones, IMAM (UNaM-CONICET), Félix de Azara 1552, Misiones, Argentina.

3- Grupo de Biotransformación, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Calle 67 N° 53-108, Medellín, Colombia.

* E-mail: anaarismendy25@gmail.com

Resumen

El objetivo de este trabajo fue encontrar las condiciones óptimas de hidrólisis enzimática de la cascarilla de arroz pretratada con hidróxido de sodio en autoclave a 121° C. Se evaluaron las variables: FPU/ g sustrato, pH, agitación, tiempo, temperatura y concentración de surfactante mediante un diseño de cribado, resultando estadísticamente significativas todas las variables. Seguidamente se aplicó un diseño de optimización para las variables: pH, FPU y tiempo, descartando las de menor nivel de significación. Finalmente, las mejores condiciones encontradas en los diseños anteriores fueron (pH 5.0, 13 h, y 30 FPU / g de sustrato) posteriormente se aplicaron estas condiciones en experiencias para evaluar la influencia del aumento de celulosa hidrolizable, usando 6%; 8% y 10% de celulosa disponible con rendimientos de sacarificación de 74%, 42% y 16%.

Palabras clave: Cascarilla de arroz; Hidrólisis enzimática; Biomasa Lignocelulósica; Condiciones óptimas; Bioetanol.

Abstract

The objective of this work was to find the optimal conditions of enzymatic hydrolysis of the rice husk pretreated with sodium hydroxide in an autoclave at 121° C. Screening design showed that all the selected variables (FPU / g substrate, pH, agitation, time, temperature and concentration of surfactant) were statistically significant. Then an optimization design was applied for the variables: pH, FPU and time, discarding the ones with the lowest level of significance. Finally, the best conditions found in the previous designs were (pH 5.0, 13 h, and 30 FPU / g of substrate) subsequently these conditions were applied in experiences to evaluate the influence of the increase in hydrolysable cellulose, using 6%; 8% and 10% of cellulose available giving saccharification yields of 74%, 42% and 16%.

Keywords: Rice husk; Enzymatic hydrolysis; Lignocellulosic Biomass; Optimal Conditions; Bioethanol.

Introducción

Debido al agotamiento de los combustibles fósiles renovables y la problemática ambiental, se buscan nuevas alternativas para la producción de biocombustibles. En los últimos años se han producido grandes cantidades de bioetanol a partir de caña de azúcar y maíz, pero esto ha generado problemáticas a nivel social, económico y político, porque se compite por el sector alimenticio, debido a que es necesario cultivar grandes cantidades para abastecer la producción de bioetanol y el sector alimenticio [1]. Una alternativa son los biocombustibles de segunda generación provenientes de desechos agrícolas o biomasa lignocelulósica. La FAO afirmó que para el año 2018/2019 se producirían cerca de 510,6 millones de toneladas de arroz, la mayor parte destinada a cubrir las necesidades

alimentarias. En Sudamérica se produjeron 24 millones de toneladas de arroz, aun así, países como Brasil, Bolivia, Colombia, Ecuador y Argentina sufrieron una reducción de la producción por condiciones climáticas no favorables, y recorte de remuneraciones [2]. La biomasa generada como residuo de esta producción agrícola (paja, cáscaras) es eliminada por prácticas como la combustión [3], con impactos negativos a nivel ambiental, por lo que se ha buscado un uso a este tipo de materias primas como fuente de biocombustibles para producir bioetanol [4].

La biomasa lignocelulósica se encuentra formada principalmente por celulosa, hemicelulosas y lignina. La celulosa es un homopolímero de largas cadenas de glucosa, las hemicelulosas son heteropolímeros de azúcares de cinco y seis átomos de carbono mientras que la lignina es un polímero aromático complejo [5].

Para la producción de bioetanol de biomasa lignocelulósica es necesario realizar tres procesos que comprenden pretratamiento, sacarificación enzimática y finalmente fermentación de azúcares generados en la etapa anterior [6]. El pretratamiento permite extraer la lignina y hemicelulosas. Debe cumplir otras características como aplicabilidad a diversos sustratos, bajo costo y consumo energético [7].

El pretratamiento debe contribuir a mejorar la formación de azúcares en la hidrólisis y no generar inhibidores que perjudiquen la eficiencia de la hidrólisis y fermentación [1]. Factores como el área superficial, la cristalinidad de la celulosa y el contenido de lignina del material dificultan la eficiencia de la hidrólisis, por lo que es necesario aplicar un pretratamiento que facilite la actividad de las enzimas [8].

Entre los pretratamientos reportados por la literatura, se encuentra el alcalino que rompe los enlaces entre lignina, hemicelulosas y celulosa, ayudando así a la eliminación de lignina y hemicelulosa [9,10]. En este proceso se hincha la biomasa, y dependiendo de la temperatura predominan las reacciones de peeling (temperaturas elevadas) o de deacetilación, consistentes en la pérdida de acetilos de los xilanos y glucomananos (a temperaturas moderadas). Este pretratamiento es más efectivo sobre latifoliadas y gramíneas que sobre coníferas [11].

La hidrólisis enzimática genera la ruptura de polímeros de celulosa y hemicelulosas, para obtener monómeros como glucosa y xilosa [12]. La hidrólisis enzimática es un proceso catalítico donde participan diferentes enzimas que actúan sinérgicamente. Las endoglucanasas se encargan de hidrolizar los enlaces β -(1,4) glucosídicos para generar extremos de cadena no reductores; las celobiohidrolasas actúan sobre los extremos no reductores y reductores hidrolizando cadenas cortas de celulosa, liberando celobiosa y las β -glucosidasas hidrolizan la celobiosa y oligosacáridos pequeños a glucosa [13].

Las enzimas utilizadas para la sacarificación son celulasas las cuales poseen especificidad por los sustratos que poseen celulosa [14].

Este trabajo buscó optimizar las condiciones de hidrólisis enzimática de la cascarilla de arroz después de ser pretratada con hidróxido de sodio a temperatura moderada.

Materiales y Métodos

Materias primas e insumos

La cascarilla de arroz fue provista por la Central Mayorista de la ciudad de Medellín, Colombia. La cascarilla inicialmente fue sometida a un tratamiento mecánico en molino para disminuir el tamaño de partícula. Se utilizaron enzimas donadas por Cellic [®]CTec2 Novozymes Latin America Araucaria Brasil.

Caracterización de la cascarilla de arroz

Se caracterizó la cascarilla sin pretratamiento y pretratada utilizando las normas NREL (*National Renewable Energy Laboratory*). Se determinó contenido de humedad y sustancias volátiles (NREL/TP-510-4262) [15], contenido de sustancias extractivas solubles en agua y etanol (NREL/TP 510-42621) [16], carbohidratos y lignina (NREL/TP-510-42618) [17], y de cenizas (NREL/TP-510-42622) [18].

Pretratamiento de la materia prima

Se pretrató la cascarilla de arroz con hidróxido de sodio 3% p/V y 10% p/V de biomasa durante una hora a 121°C en autoclave según protocolo optimizado por López, 2012 [19].

Hidrólisis enzimática

Se realizó mediante protocolo propuesto en la norma NREL para hidrólisis enzimática (NREL/TP-510-42629) [20] modificando la cantidad de carga enzimática que se utiliza en este trabajo con 30 FPU FPU/g sustrato y la utilización del surfactante Tween 80 para mejorar el funcionamiento de la hidrólisis enzimática y además, no se agregaron antibióticos. Se determinó la humedad y sustancias volátiles (NREL/TP-510-42621) [15] de la cascarilla pretratada. Se utilizó un volumen de trabajo de 200 mL en todos los diseños aplicados, incluyendo los ensayos preliminares para aumento de celulosa hidrolizable. El proceso de hidrólisis enzimática se aplicó a la cascarilla pretratada según dos diseños experimentales y se realizó un ensayo preliminar para verificar un eventual aumento de celulosa hidrolizable.

Las condiciones de los diseños pueden observarse en la Tabla 1.

Tabla 1: Condiciones de trabajo en los diseños experimentales aplicados con 1 % de celulosa hidrolizable

Tipo de diseño	FPU/ g sustrato	pH	Temperatura (°C)	Agitación (rpm)	Tiempo (h)	Concentración de surfactante (g/L)
Cribado	10	4,8	32	100	8	0,1
	20	6,0	37	180	12	0,3
Optimización	3	4,1	37	180	6	0,3
	10	4,5			8	
	25	5,2			13	
	40	6,0			18	
	47	6,3			20	

El volumen de trabajo del hidrolizado que corresponde a 200 mL se completó con el buffer citrato de sodio correspondiente a 100 mL, 98 mL aproximadamente de agua destilada, las cantidades de enzima, de surfactante Tween 80 (g/L) y ajuste de pH, se especifican en la Tabla

1, según corresponde a cada diseño realizado. A partir de los resultados obtenidos del diseño de cribado se dejaron fijas las variables: concentración de surfactante, velocidad de agitación y temperatura.

Para desarrollar a futuro fermentaciones e hidrólisis y fermentación simultánea con *S. cerevisiae*, los rangos de cada una de las variables se fijaron según bibliografía consultada y observando que a 37° C se generan rendimientos aceptables de azúcares fermentables y también es la temperatura máxima que podrían llegar a soportar microorganismos como *S. cerevisiae*, al igual que el resto de condiciones optimizadas en los procesos realizados en este trabajo, que también son favorables para los procesos posteriores. Seguidamente las variables que se estudiaron en el diseño de optimización fueron pH, tiempo y FPU/g sustrato. Del diseño de optimización se obtuvieron las condiciones en las que se podrían llegar a obtener rendimientos cercanos al 70% de azúcares, pero con una cantidad muy significativa de enzima. Por esta razón se realizaron ensayos con una cantidad menor de enzima, tomada como referencia de la gráfica de contornos, para llegar a obtener rendimientos de azúcares de hasta un 52%.

La concentración y el rendimiento de los azúcares en la hidrólisis enzimática se obtuvieron como se muestra en las ecuaciones 1 y 2.

$$\text{Concentración de azúcares} = (\text{g cascarilla secos} \times 0,51/0,9) = \text{g/L azúcares} \quad \text{Ec.1}$$

$$\% \text{ Rendimiento de azúcares} = (\text{g azúcares obtenidos} / \text{g azúcares teóricos} \times 100) = \% \text{ azúcares} \quad \text{Ec.2}$$

Donde: 0,51 es la cantidad de celulosa en el material que fue previamente determinada por HPLC y 0,9 es el factor de hidrólisis.

El rendimiento de azúcares se obtiene de los g cuantificados por DNS en los diseños de hidrólisis enzimática, y los g de azúcares teóricos son obtenidos de la cantidad de celulosa que se utiliza en cada diseño dividido entre 0,9 que es el factor de hidrólisis. Las condiciones correspondientes de cada diseño se explican en la Tabla 1.

Métodos analíticos

Los carbohidratos se determinaron por el método de azúcares reductores DNS (ácido dinitrosalicílico) [21] para los diseños realizados y cromatografía líquida en fase reversa (Waters HPLC System), usando la columna Aminex HPX-87H, HPX-87P marca BIORAD para la caracterización de la materia prima original y después de pretratada.

Las actividad enzimática expresada en FPU (Filter Paper Unit), la capacidad que posee la enzima para sacarificar celulosa, se determinó siguiendo el procedimiento detallado por IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*; Ghose 1987) [22].

Diseños experimentales

Para la hidrólisis enzimática, con la finalidad de encontrar los factores significativos, se aplicó un diseño de cribado de un octavo de fracción, 4 puntos centrales y resolución 3, por duplicado, completando una totalidad de 24 experiencias.

Para obtener las condiciones con mayores rendimientos de producción de azúcares se propuso un diseño de optimización rotatable con 5 puntos centrales, por duplicado, completando 38 experiencias, se trabajó con el error puro en los diseños.

Con las condiciones óptimas de hidrólisis enzimáticas obtenidas en el diseño anterior, se realizaron ensayos de optimización/sup respuesta para evaluar el rendimiento de azúcares con 6, 8 y 10% de celulosa hidrolizable. Se realizó por duplicado totalizando 6 experiencias. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa Startgraphics Centurión.

Resultados y Discusión

Caracterización de la cascarilla de arroz

La composición de la cascarilla de arroz sin pretratamiento (original) fue: lignina insoluble en ácido 20,4%; extractivos totales 15%; inorgánicos 10%; 55% carbohidratos totales (glucano y xilano), mientras que su composición después del pretratamiento fue: lignina insoluble en ácido 11,3%; inorgánicos 2,0%; 51% glucano; 13% de extractivos totales y 16,1 % xilano. La caracterización de la biomasa después del pretratamiento se realizó para establecer la cantidad de celulosa disponible a hidrolizar en los diseños desarrollados.

Selección de variables

Los resultados del diseño de cribado para verificar la significación de las variables sobre la hidrólisis enzimática se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2: Resultados del diseño de cribado de hidrólisis enzimática

FPU/ g sustrato	pH	Agitación (rpm)	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Concentración surfactante(g/L)	Rendimiento azúcares (%) (D.S)
10	4,8	100	37	12	0,3	41,0 (± 0,0)
20	6,0	100	37	8	0,1	46,0 (± 0,0)
20	6,0	180	37	12	0,3	49,0 (± 0,0)
10	4,8	180	37	8	0,1	29,5 (± 0,5)
20	4,8	100	32	8	0,3	48,7 (± 0,1)
10	6,0	100	32	12	0,1	18,9 (± 0,7)
15	5,4	140	34	10	0,2	41,5 (± 0,7)
20	4,8	180	32	12	0,1	50,5 (± 0,3)
10	6,0	180	32	8	0,3	21,0* (± 0,0)

* Promedio de 8 repeticiones del punto central

El análisis de la varianza indicó que las variables FPU/g sustrato, pH, temperatura, tiempo y concentración de surfactante g/L (Tween 80) son significativas en el proceso de hidrólisis enzimática ($p < 0,05$), mientras que la agitación prácticamente no resultó significativa en el proceso (p cercano a 0,05). Esto significa que para los volúmenes y la concentración de sólidos utilizada la influencia de esta variable puede descartarse. Sin embargo, esto podría cambiar al aumentar la concentración de sólidos.

Los resultados de la influencia de la concentración de surfactante sobre la hidrólisis enzimática confirman que contribuye a mejorar la eficiencia de la interacción entre sustrato y enzima [23, 24,25], mejorando así la accesibilidad de la enzima al sustrato [24,26]. Con cantidades de carga enzimática en rangos de 10 a 20 FPU/g sustrato se obtuvieron rendimientos de alrededor del 50% en 12 horas como máximo. Se decidió fijar la temperatura en 37°C en base a la bibliografía, ya que se han reportado rendimientos significativos de etanol con levaduras comerciales (*S. cerevisiae*) a esa temperatura. En dichos trabajos se utilizaron velocidades de agitación de 500 rpm verificando que es fundamental aumentar la velocidad de agitación al procesar una mayor carga de biomasa [27].

Optimización de la hidrólisis enzimática

Para realizar la optimización de la hidrólisis enzimática, según los resultados del diseño de cribado, todas las variables resultaron significativas, aunque la velocidad de agitación mostró encontrarse en el límite de la significación estadística ($p = 0,05$). Para realizar el próximo diseño se aplicaron las condiciones mostradas en la Tabla 2, manteniendo fijas las variables agitación en 180 rpm, la temperatura de 37° C y la concentración de surfactante 0,3 g/L. Los resultados se muestran en la Tabla 3. Se observa que con el aumento de la carga enzimática (FPU/g sustrato) lo máximo que puede obtenerse es 65% de rendimiento, con pH hasta 5,3.

Tabla 3: Resultados del diseño de optimización de la hidrólisis enzimática

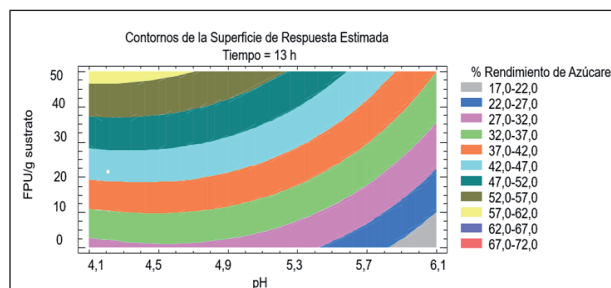
pH	FPU/g sustrato	Tiempo (h)	Rendimiento azúcares (%) (D.S)
4,5	10	8	28,5 (± 0,5)
6,0	10	8	16,5 (± 0,7)
4,5	40	8	51,3 (± 1,8)
6,0	40	8	33,1 (± 0,1)
4,5	10	18	30,2 (± 0,1)
6,0	10	18	18,5 (± 0,7)
4,5	40	18	56,7 (± 0,4)
6,0	40	18	33,0 (± 0,0)
4,1	25	13	41,5 (± 0,7)
6,4	25	13	11,0 (± 0,7)
5,3	3	13	15,5 (± 0,7)
5,3	47	13	65,0 (± 0,0)
5,3	25	6	47,0 (± 0,0)
5,3	25	20,4	24,0 (± 0,01)
5,3	25	13	42,4* (± 1,07)

*Promedio de 10 repeticiones del punto central

La ecuación del modelo ajustado ($R^2 = 90,5$) se presenta a continuación. La ecuación se elaboró con variables transformadas.

Rendimiento de azúcares (%) $42,4 - 8,6.pH + 12,0.FPU/g sustrato - 2,2.Tiempo - 5,7.pH^2 - 2,3.pH.FPU/g sustrato - 0,7.FPU/g sustrato^2 - 2,4.Tiempo^2$

La Figura 1 muestra la representación del modelo de rendimiento de hidrólisis enzimática a diferentes cargas enzimáticas y pH en un rango de 4,5-6,0 para un tiempo de 13 h (punto central).

**Figura 1:** Gráfico de contornos de optimización del rendimiento de hidrólisis (13 horas de tratamiento)

A partir de los resultados obtenidos del diseño de optimización de la hidrólisis enzimática, se obtuvo que el máximo rendimiento de azúcares en 13 h es de aproximadamente 65% con 47 FPU/g sustrato y pH 5,0. Se ha reportado que la carga enzimática para materiales lignocelulósicos puede variar entre 7 y 33 FPU/ g sustrato, según la concentración de sustrato utilizado y tipo de material [1]; por lo que se puede deducir que la carga enzimática arroja por el programa es demasiada alta, lo que perjudicaría la rentabilidad del proceso.

Siguiendo el modelo representado en la Figura 1, se decidió realizar ensayos de comprobación tomando como referencia los parámetros 30 FPU/g sustrato (recomendado) y 13h, a pH 4,5 y 5,0, considerando que en estas condiciones se obtendría un rendimiento teórico de azúcares del 52% aproximadamente. Además, los pH

podrían resultar favorables para los microorganismos en los procesos de hidrólisis y fermentación simultánea. Los rendimientos de azúcares (%) para los pH de 4,5 y 5,0 fueron 44,0% y 53,0% respectivamente. Se puede observar que la diferencia al hidrolizar biomasa a pH 4,5 y pH 5,0 es importante; siendo mayor la producción de azúcares con pH 5,0. Por lo tanto, para el estudio siguiente se tomaron los parámetros 30 FPU/ g sustrato, pH 5,0 y tiempo 13 h, variando el porcentaje de celulosa hidrolizable en 3 niveles. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4: Resultados de los ensayos de variación de celulosa hidrolizable

Celulosa hidrolizable (%)	Rendimiento de azúcares (%)
6	75,0
6	74,2
8	42,1
8	42,0
10	16,2
10	16,0

La prueba de múltiple rangos LSD (Least significant difference), se utilizó para comparar las medias de cada uno de los porcentajes de celulosa hidrolizable, esta prueba indicó que existen diferencias significativas entre las medias de todos los niveles ensayados ($p < 0,05$), resultando mejores los rendimientos obtenidos con el menor porcentaje de celulosa hidrolizable (6,0%). Es probable que un aumento en la cantidad de celulosa genere algún tipo de inhibición por sustrato. Por otra parte, si bien la agitación casi no mostró influencia sobre el proceso al utilizar 1% de masa, al aumentar ésta al 6% puede que la agitación orbital no sea la más adecuada y que el sistema requiera una agitación más enérgica.

El máximo rendimiento obtenido fue de 75% en 13 h de tratamiento. Comparando con lo reportado en literatura, se puede afirmar que la productividad de la hidrólisis enzimática en este trabajo se encuentra en un rango aceptable teniendo en cuenta que se emplearon 13 h para el proceso, lo cual implica disminución de costos. La productividad de 1,7 (g/L.h) para 6% de celulosa hidrolizable, es comparable con resultados obtenidos utilizando hojas de la planta de mandioca también pretratadas con álcali. Los autores obtuvieron una productividad de 1,4 (g/L.h) al sacarificar 6% de biomasa durante 18 h con una carga enzimática de 22 FPU/g sustrato [19]. En trabajos reportados utilizando cascarilla de arroz pretratada con 0,3 y 1% p/v de ácido sulfúrico con vapor a 152° C se obtuvieron rendimientos de hidrólisis de 55,7% luego de 72 h de hidrólisis enzimática, aplicando 40 FPU/g sustrato usando como catalizadores las enzimas endoglucanasa (NS 50013 Product) y celobiasas (NS 50010 Product) provistas por Novozymes [28]. En un estudio realizado con lodo de *Eucalyptus globulus* se obtuvo una concentración de 80,4 g/L de azúcares durante 96 h, con una carga enzimática de 25 FPU/g sustrato, y una productividad de 0,84 (g/L.h) [30] También se reporta

que con pretratamiento de explosión de vapor durante 10 min a 220° C, con una cantidad de 6,0% de celulosa hidrolizable se llegó a obtener un rendimiento menor a 75% con 22FPU/ g sustrato durante 96 h a 50° C, utilizando las enzimas Cellic ®CTec2 y Cellic ®HTec2 [31] Otro autor reporta el uso de un proceso de deslignificación alcalina en microondas con hidrólisis posterior de 50,0 gr de cascarilla pretatada (46,0% de celulosa), en un reactor de 3,0 litros, utilizando un coctel enzimático crudo de endoglucanasas 198,2 IU/g, xilanasas 134,3 IU/g y β -glucosidasas 147,8 IU/g (actividades de exoglucanasa 8,2 FPU/g), obteniendo rendimientos cercanos al 88% durante 72 h [32]. En un estudio sobre rastrojo de maíz, se aplicó un diseño de superficie de respuesta para evaluar la influencia de la temperatura y la carga de hidróxido de sodio en el pretratamiento alcalino utilizando las siguientes condiciones: 130° C; 0,70 g de hidróxido de sodio/g de rastrojo de maíz, durante 75 minutos, obteniendo un rendimiento de azúcares de 59.8% [33]. El resultado es comparable con el obtenido en este trabajo pero con un tiempo de 13 h y una carga enzimática aceptable. Esto se debe a que la cascarilla después del pretratamiento posee un porcentaje significativo de lignina y hemicelulosas que afectan la efectividad de la hidrólisis enzimática.

Conclusiones

Se evaluó la influencia de las variables FPU/g sustrato, pH, tiempo, temperatura, concentración de surfactante y agitación sobre la hidrólisis enzimática de cascarilla de arroz pretratada con álcali a temperatura moderada. Todas las variables afectaron significativamente al proceso para 1% de celulosa disponible. Se observa que para el incremento de celulosa en el proceso es necesario utilizar una agitación más enérgica, para mejorar la homogenización del medio y aumentar los rendimientos de hidrólisis. Por consiguiente es viable el estudio del aumento de celulosa en el medio mejorando la agitación, ya que conlleva a obtener mayores cantidades de azúcares disponibles para la fermentación.

Utilizando 30,0 FPU/ g sustrato y pH 5,0 durante 13 h se obtuvo un rendimiento de hidrólisis enzimática cercano al 53%. Incrementando el porcentaje de celulosa hidrolizable al 6%, el rendimiento de hidrólisis aumento, llegando al 75%. Este valor es más que aceptable para un tiempo tan reducido (13h, en comparación con los usuales de 48-72 h).

Agradecimientos

Se agradece al CONICET (Consejo de Investigaciones Científicas y Técnicas de Argentina) por la beca de posgrado otorgada a Ana María Arismendy Pabón y también al Dr. Mario Arias Zabala, docente de la Universidad Nacional Sede Medellín, Colombia y director del grupo

Bioconversiones, por facilitar el equipamiento para realizar algunas experiencias de este trabajo.

Referencias

- Sun, Y y Cheng J. *Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: A review*, Bioresour. Technol. pp. 1–11. 2002.
- FAO. *Seguimiento del mercado del Arroz de la FAO Abril de 2017*, 2017. Available at <http://www.fao.org/3/I9243ES/i9243es.pdf>.
- Singh, A; Tuteja S; Singh, N; Bishnoi, N. R. *Enhanced saccharification of rice straw and hull by microwave-alkali pretreatment and lignocellulolytic enzyme production*, Bioresour. Technol. pp. 1773–1782. 2011.
- Moniruzzaman, M. *Effect of steam explosion on the physicochemical properties and enzymatic saccharification of rice straw*, Appl. Biochem. Biotechnol. - Part A Enzym. Eng. Biotechnol. pp. 283–297. 1996.
- Rubin, E. M. *“Genomics of cellulosic biofuels*, Nature. pp. 841–845. 2008.
- B. C. Saha and M. A. Cotta. *Enzymatic saccharification and fermentation of alkaline peroxide pretreated rice hulls to ethanol*, vol. 41, pp. 528–532, 2007.
- Alvira, P; Tomás-Pejó, E; Ballesteros, M; Negro, M. J. *Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review*, Bioresour. Technol. pp. 4851–4861. 2010.
- Lynd, L.R; Weimer, P.J; van Zyl, W.H; Pretorius I.S. *Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology*. pp. 508. 2004.
- Gáspár, M; Kálmán, G; Réczey, K. *Corn fiber as a raw material for hemicellulose and ethanol production*. Process Biochem. pp. 1135–1139. 2007.
- Hahn-Hägerdal, B; Galbe, M; Gorwa-Grauslund, M. F; Lidén, G; Zacchi, G. *Bio-ethanol - the fuel of tomorrow from the residues of today*. Trends Biotechnol. 2006.
- Hon, D.N.S. *Chemical Modification of Lignocellulosic Materials*, Editor. CRC Press Taylor y Francis Group. London. 1996.
- Taherzadeh, M. J y Karimi K. *Enzyme-based Hydrolysis Processes for Ethanol from Lignocellulosic Materials: A Review*, vol. 2, no. 4. 2007.
- Wood, T. M and McCrae, S. *Synergism Between Enzymes Involved in the Solubilization of Native Cellulose*. Hydrolys. Cellul. Mech. Enzym. Acid Catal. vol. 181, no. 1. 1979.
- T. K. Ghose. *International Union of Pure Commission on Biotechnology, Measurement of Cellulase Activities*. Pure Appl. Chem., vol. 59, no. 2, pp. 257–268, 1987.
- Sluiter, A. y col. *Determination of total solids in biomass and total dissolved solids in liquid process samples*. Natl. Renew. Energy Lab. pp. 3–5. 2008.
- Sluiter, A. y col. *Determination of Extractives in Biomass*. Natl. Renew. Energy Lab. 2008.
- Sluiter, A. y col. *Determination of structural carbohydrates and lignin in Biomass*, Natl. Renew. Energy Lab. p. 17. 2004.
- Sluiter, A y col. *Determination of Ash in Biomass*. Natl. Renew. Energy Lab. pp. 1–8. 2005.
- López, N.L. *Producción de Etanol a Partir de Residuos Lignocelulosicos de Yuca (Manihot esculenta Crantz) Mediante SHF y SSF en Modo Batch y Fed Batch*, 2012.
- Resch, M. G.; Baker, J. O; Decker, S. R. *Low Solids Enzymatic Saccharification of Lignocellulosic Biomass*. Natl. Renew. Energy Lab. pp. 1–9, 2015.
- [21] G. L. Miller. *Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar Analytical Chemistry*. Vol. 31, N° 3, p.426–428, March 1959.
- Ghose, T. K. *International Union of Pure Commission on Biotechnology, Measurement of Cellulase Activities*. Pure Appl. Chem. pp. 257–268. 1987.
- Eriksson, T; Börjesson, J; Tjerneld, F. *Mechanism of surfactant effect in enzymatic hydrolysis of lignocellulose*, Enzyme Microb. Technol. pp. 353–364. 2002.
- Kaar, W. E. y Holtzapfel, M. T. *Benefits from Tween during enzymic hydrolysis of corn stover*. Biotechnol. pp. 419–427. 1998.
- Malmsten, M y Van Alstine, J. M. *Adsorption of poly(ethylene glycol) amphiphiles to form coatings which inhibit protein adsorption*, J. Colloid Interface Sci. pp. 502–512, 1996.
- Helle, S. S; Duff, S. J. B; Cooper, D. G. *Effect of surfactants on cellulose hydrolysis*. Biotechnol. Bioeng. pp. 611–617. 1993.
- Castaño, H. M; Cardona, B. C; Gomez, M; Cárdenas, A. A. *Ethanol Production From Cassava Flour in Simultaneous Enzymatic Hydrolysis and Fermentation System*, pp. 158–166. 2011.
- Dagnino, E. P; Chamorro, E. R; Romano, S. D; Felissia, F. E; Area, M. C. *Optimization of the acid pretreatment of rice hulls to obtain fermentable sugars for bioethanol production*. Ind. Crops Prod. pp. 363–368. 2013.
- Vallejos, M. E; Krueyanski, J; Area, M. C. *Second-generation bioethanol from industrial wood waste of South American species*. Biofuel Res. J. pp. 654–667. 2017.
- Romani, A; Ruiz, H. A; Pereira F. B; Teixeira, J. A; Domingues, L. *Integrated approach for effective bioethanol production using whole slurry from autohydrolyzed Eucalyptus globulus wood at high-solid loadings*. Pp. 482–491. 2014.
- Wood, I. P. y col. *Comparison of saccharification and fermentation of steam exploded rice straw and rice husk*. Biotechnol. Biofuels. pp. 1–9. 2016.
- Singh, A.; Bajar, S; Bishnoi, N. R. *Enzymatic hydrolysis of microwave alkali pretreated rice husk for ethanol production by Saccharomyces cerevisiae, Scheffersomyces stipitis and their co-culture*. Fuel. pp. 699–702. 2014.

33. Ye Chen, H. X ; Stevens, M. A ; Zhu, Y. *Understanding of alkaline pretreatment parameters for corn stover enzymatic saccharification*. Biotechnol. Biofuels. pp. 2–10. 2013.

Recibido: 25/02/2019.

Aprobado: 01/08/2019.

RECYT

Año 21 / N° 32 / 2019 / 71–75

Modelado matemático del secado de fideos libres de gluten, influencia de la velocidad del aire

Mathematical modeling of gluten-free noodles drying, influence of air velocity

Paola S. Chigal¹, Laura B. Milde², Luis A. Brumovsky²

1- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Posadas, Argentina.

2- Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones (UNaM). Misiones, Argentina.

* E-mail: paolachigal@gmail.com

Resumen

Se modeló matemáticamente la cinética de secado de pastas libres de gluten, y se estudió la influencia de la velocidad del aire sobre datos experimentales. Los fideos espagueti fueron elaborados mezclando fécula de mandioca, harina de maíz, leche en polvo, huevo, margarina y goma xántica, con agregado de agua. Se secaron a 40° C y a tres velocidades de aire: 0,4; 0,8 y 1,5 m/s. Se observó una disminución del tiempo de secado a medida que aumenta la velocidad del aire. Los datos se ajustaron a tres modelos matemáticos semi-empíricos de capa fina, se seleccionó como mejor ajuste la ecuación de Page ($R^2 = 99\%$) para las tres velocidades analizadas. El parámetro k de la ecuación de Page presentó dependencia con la velocidad de aire mientras que el parámetro n se consideró constante. Los resultados obtenidos podrían ser utilizados para la predicción del tiempo de secado de las pastas analizadas.

Palabras clave: Secado; Fideos libres de gluten; Modelado matemático; Ecuaciones de capa fina.

Abstract

The drying kinetics of gluten-free pasta was modeled mathematically, and the influence of air velocity on experimental data was studied. Spaghetti noodles were made by mixing cassava starch, corn flour, milk powder, egg, margarine and xanthan gum, with water added. They were dried at 40° C and three air velocities: 0.4; 0.8 and 1.5 m/s. A decrease in drying times as the air velocity increases was observed. The data were adjusted to three semi-empirical mathematical models of thin layer; for the three velocities analyzed, the Page's equation was selected as the best fit. The parameter k of Page's equation presented dependence with the air velocity while the parameter n was considered constant. The results obtained could be used to predict the drying time of the pastas analyzed.

Keywords: Drying; Gluten free noodles; Mathematical modeling; Thin layer equations.

Introducción

En muchos países, las pastas constituyen un alimento básico en la dieta de las personas [1], motivo por el cual la industria se encuentra en constante búsqueda de técnicas innovadoras principalmente en cuanto al proceso de deshidratación de las mismas. El secado se define como una operación en la que se produce la remoción de agua en pequeñas cantidades de un material por acción del calor. En los alimentos, su uso está orientado principalmente a la preservación de los mismos, debido a que los microorganismos que provocan la descomposición de los alimentos, no pueden crecer y multiplicarse en ausencia de agua; además, las enzimas que causan alteraciones en los alimentos, no pueden funcionar sin agua [2]. Todo esto hace que la vida útil del producto aumente significativamente.

El Código Alimentario Argentino define a los fideos secos como aquellos que han sufrido un proceso de desecación y exige que contengan una humedad no superior al 14% p/p [3].

El proceso de secado se lleva a cabo generalmente mediante convección forzada de aire caliente, por lo que la rapidez del proceso, y por lo tanto la cinética de secado, dependen tanto de factores del alimento (densidad, porosidad, composición, contenido de humedad inicial, geometría), como de factores operativos que incluyen la temperatura, la humedad y la velocidad de circulación del aire [4, 5, 6, 7]. Estas variables operativas deben ser estrictamente controladas, de manera tal que la eliminación de agua sea lenta para evitar que el fideo se seque rápidamente y se endurezca antes la superficie que el interior, provocando la rotura del producto durante la manipulación [8]. Tal

resultado tendría un impacto negativo en la aceptación del consumidor a causa de un mal aspecto y una calidad inferior de cocción [9]. El secado de la pasta en fábricas se realiza bajo condiciones variadas tanto de temperaturas (entre los 40° C y 105° C) como de humedades relativas (entre el 40% y el 95%) (10). Estas condiciones deben estar relacionadas con las propiedades de la pasta como una función del tiempo, para determinar las variables operativas óptimas del proceso de acuerdo con cualquier criterio de calidad de la pasta [11].

El secado es una operación difícil de describir, debido a la complejidad de los fenómenos internos y externos que ocurren durante el mismo. Por ello se emplean modelos matemáticos que representen la cinética de secado de los alimentos y contribuyan a predecir tiempos de procesamiento y así optimizar la eficiencia del secado. Actualmente en la literatura se encuentran varios métodos propuestos para analizar el secado de productos alimenticios: modelos teóricos, semiempíricos y empíricos.

Dentro de los más usados se destacan los modelos de cinética de secado que se basan en relaciones semiempíricas de capa fina, que realizan una simplificación de las ecuaciones que describen el proceso [12]. Se basan en la suposición de que la disminución de la humedad es proporcional a la diferencia instantánea entre el contenido de humedad del material (asumida uniforme dentro del alimento) y el contenido de humedad en equilibrio con el aire de secado [13]. Entre las ecuaciones más utilizadas en la literatura para describir este modelo se encuentran las logarítmicas, la ecuación de Newton, de Page, de Henderson y Pabis, entre otras.

El objetivo del presente trabajo fue modelar matemáticamente la cinética de secado de pastas libres de gluten, y estudiar la influencia de la velocidad del aire sobre los datos experimentales.

Materiales y métodos

Equipos de secado

Las pruebas de secado se llevaron a cabo en la Planta piloto del módulo de ingeniería de la Facultad de Ciencias Exactas, Química y Naturales, ubicado en el Campus de la Universidad Nacional de Misiones. La temperatura aplicada para llevar a cabo los ensayos fue 40° C, la misma se seleccionó porque, al tratarse de una pasta elaborada con harinas diferentes al trigo, su estructura es más frágil, presenta menor cantidad de agua en su formulación y el secado se produce en tiempos menores a los de las pastas tradicionales. Si se utilizaran temperaturas superiores, el secado se llevaría a cabo a velocidades tan elevadas que podría producirse sequedad excesiva en la superficie de la pasta volviéndola muy quebradiza y de baja calidad [7]. En cuanto a la humedad relativa del aire de secado, los

equipos utilizados no cuentan con un instrumento capaz de regularla, por lo que la misma únicamente fue controlada mediante el uso de un termómetro con un algodón humedecido para medir la temperatura de bulbo húmedo y calcular la humedad relativa. En todas las determinaciones, los valores estuvieron en un rango de 60 a 65%.

Para alcanzar las velocidades de aire en estudio, se utilizaron dos equipos de secado: un secadero de escala de laboratorio, con el cual se estudiaron las velocidades de 0,8 y 1,5 m/s, y un horno de secado por convección de aire (marca Dalvo, modelo EHRE, Argentina) para analizar valores de velocidades de aire de 0,4 m/s. El secadero de escala laboratorio consta de: una cámara de secado donde fueron colocadas las bandejas metálicas que contenían las muestras; un sistema de calentamiento del aire con resistencias eléctricas y un ventilador para la circulación del aire. Previo a las experiencias de secado, se acondicionó el funcionamiento del equipo durante 30 minutos, hasta operación estable (40° C, y la velocidad correspondiente).

Preparación de las muestras

Se procedió a la elaboración de las pastas de manera artesanal, partiendo de una formulación compuesta por: fécula de mandioca (*Montecarlo*, Misiones) y harina de maíz (*Indelma*, Santa Fe) en proporción 80:20, 5% de leche en polvo (*Ilolay*, Santa Fe), 6% de materia grasa (*Margadán*, Buenos Aires), 12% de huevo entero y 0,6% de sal (*Dos Anclas*, San Luis), se incorporó 0,6% de goma xántica (*Parafarm*, Buenos Aires), con la intención de reemplazar el gluten y proporcionar a las masas, elasticidad y mayor resistencia. Se agregó agua hasta formar una masa homogénea y, mediante el uso de una máquina para elaborar pastas (*Pluselectric*, China), fue laminada entre dos rodillos lisos de acero inoxidable hasta un espesor de 2 mm y cortada entre dos rodillos acanalados para formar tiras de 1 mm de ancho, tipo espagueti. Se estandarizó el largo de las tiras en 20 cm.

Cinética del secado

Para cada experiencia de secado, 50 g de pastas fueron colocadas en bandejas rectangulares de aluminio, extendidas y separadas para evitar que se peguen entre sí durante la operación. Las bandejas se pesaron inicialmente cada 10 minutos durante la primer hora de secado y luego cada 20 minutos hasta peso constante, de manera tal de evaluar la pérdida de agua y poder realizar los gráficos correspondientes (cinética y rapidez de secado). Las determinaciones se realizaron por duplicado y la humedad inicial de las muestras fue evaluada mediante la técnica N° 925.09 de la AOAC [14].

Modelado matemático

Se utilizaron tres modelos matemáticos de capa fina de los más utilizados en la literatura, para representar la cinética de secado experimental de pastas. En estos modelos, la variable dependiente es XR la cual representa la relación de humedad:

$$XR = \frac{X_t (b. s.)}{X_0 (b. s.)} \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde: X_t es la humedad a un tiempo t y X_0 es la humedad inicial, ambas en base seca. La Tabla 1 muestra las expresiones de los modelos seleccionados. Los valores de k , n y a son parámetros de los modelos cinéticos.

Tabla 1: Ecuaciones de los modelos de ajuste de la cinética del secado

Modelos	Ecuación
Page	$XR = e^{-(k \cdot t)^n}$ (Ec. 2)
Newton	$XR = e^{-(k \cdot t)}$ (Ec. 3)
Henderson - Pabis	$XR = a \cdot e^{-(k \cdot t)}$ (Ec. 4)

Análisis estadístico

Los mejores ajustes serán aquellos que presenten valores más altos del estadístico R^2 , menores valores de Error Absoluto Medio (MAE) y Cuadrado del Error Medio (CME). Estos estadísticos fueron calculados con el software “Statgraphics plus 5.1”, mediante un análisis de Regresión no lineal. Las curvas, tanto experimentales como las modeladas fueron graficadas mediante el programa Microsoft Excel 2010.

Resultados y Discusión

Cinética del secado

La humedad inicial de las pastas fue de 55,8% (b.s.). Todas las curvas presentaron una forma exponencial, similar a las observadas en general para los productos alimenticios [2].

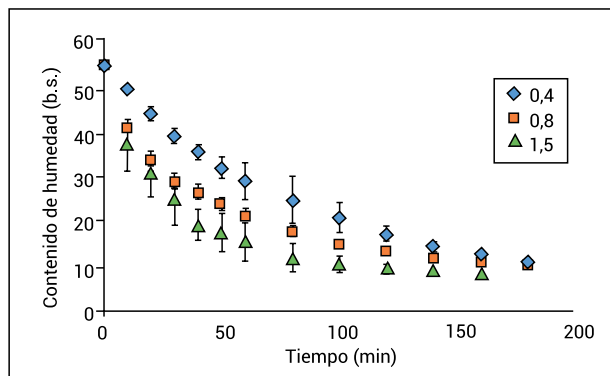


Figura 1: Curvas de secado de las pastas para velocidades de aire de 0,4; 0,8 y 1,5 m/s; valores medio y desvíos estándares.

En la Figura 1 se observa la influencia de la velocidad del aire sobre las curvas de secado de las muestras de fideos analizadas. Como era de esperarse, los tiempos de secado de las pastas variaron de manera inversamente proporcional con la velocidad del aire empleado, resultados similares a los obtenidos por Inazu, Iwasaki y Furuta (2003) [15] al evaluar la influencia de la velocidad del aire de secado de fideos tipo udon. Los tiempos hasta alcanzar una humedad menor a 14% fueron de: 160 min para la velocidad de 0,4 m/s, 120 min para la velocidad de 0,8 m/s y 60 min para la velocidad de 1,5 m/s. Puede decirse que la velocidad del aire influyó en la cinética de secado de las pastas incluso a la máxima velocidad estudiada, contrario a los resultados obtenidos por Andrieu y Stamatopoulos (1986) [16].

Las curvas de cinética de secado no presentaron un periodo inicial de ajuste; esto puede deberse a que la temperatura de secado es lo suficientemente baja y el material que ingresa a la cámara no necesita precalentamiento ya que alcanza la temperatura del aire rápidamente; este fenómeno es común en los productos alimenticios [17].

En la Figura 2 se presenta la gráfica con los valores medios y sus desvíos estándares de la rapidez de secado de las pastas en función del contenido de humedad, para cada una de las velocidades del aire de secado.

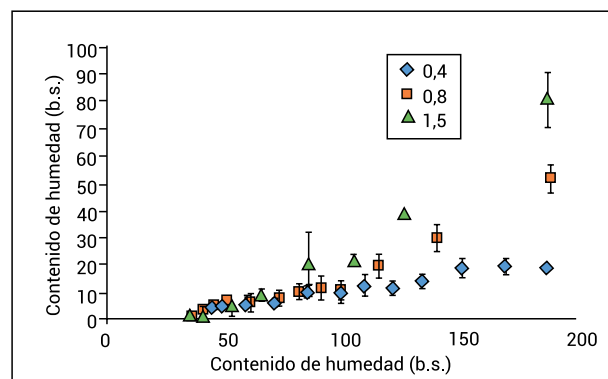


Figura 2: Curvas de rapidez de secado de las pastas para velocidades de aire de 0,4; 0,8 y 1,5 m/s; valores medios y desvíos estándares.

Se distingue en la Figura 2, que el secado se llevó a cabo en su mayor parte en el periodo de velocidad decreciente, no se evidenció el periodo de velocidad constante para ninguna de las experiencias de secado. Este fenómeno no resultó extraño considerando que no se observó humedad en la superficie de las pastas, al iniciar el proceso de secado. En las curvas se observa, principalmente para las velocidades de secado de 0,8 y 1,5 m/s, dos periodos de velocidad decreciente; solamente el primero con cierta tendencia a la linealidad. Resultados similares fueron obtenidos por otros autores cuando estudiaron la cinética de secado mediante convección forzada de aire caliente en distintos alimentos, como ser fideos elaborados con una mezcla de harinas diferentes al trigo (18,19) o rodajas de batata [20].

Modelos matemáticos de las curvas de secado

A partir de los valores que se presentan en la Tabla 2 se puede observar que, excepto el modelo de Newton para la velocidad de aire de 1,5 m/s, los demás describieron satisfactoriamente las curvas de secado de las pastas analizadas. El modelo de Page es el que presentó los valores más altos del estadístico R^2 y los menores valores para MAE y CME los que se mantuvieron constantes para las tres velocidades de aire evaluadas; por lo que se consideró como el modelo con mejor ajuste a los datos experimentales de cinética de secado (Figura 3).

Tabla 2: Resultados de los parámetros estadísticos y de ajuste de las ecuaciones de modelado cinético a distintas velocidades de aire.

Modelos	Parámetros	0,4 m/s	0,8 m/s	1,5 m/s
PAGE	R^2 (%)	99,28	99,81	99,48
	MAE	0,0162	0,0072	0,0143
	CME	0,0006	0,0001	0,0004
	K	0,016	0,081	0,133
	n	0,902	0,596	0,564
NEWTON	R^2 (%)	98,68	87,30	0
	MAE	0,0222	0,0718	18,4
	CME	0,0009	0,0074	640,9
	K	0,009	0,015	$k < 0$
HENDERSON-PABIS	R^2 (%)	98,83	92,84	91,81
	MAE	0,0211	0,0287	0,0598
	CME	0,0009	0,0047	0,0062
	a	0,977	0,858	0,884
	K	0,010	0,012	0,023

Modelo (0,4 m/s)

Modelo (0,8 m/s)

Modelo (1,5 m/s)

Experimental (0,4 m/s)

Experimental (0,8 m/s)

Experimental (1,5 m/s)

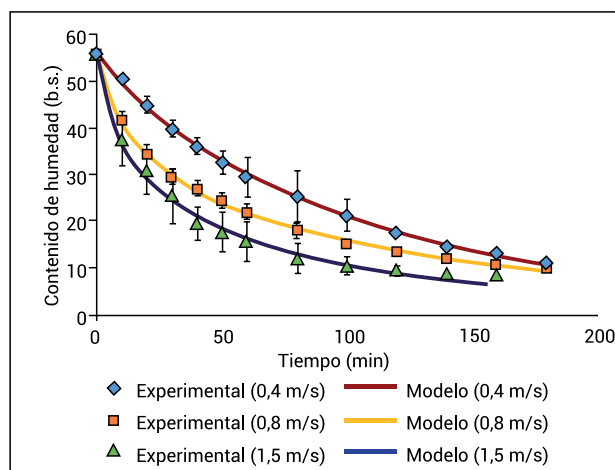


Figura 3: Curvas de secado (experimentales y modeladas mediante la ecuación de Page) para las pastas estudiadas.

El buen ajuste que presenta la ecuación de Page podría deberse a que, como las curvas de secado analizadas presentan tendencia exponencial, el parámetro n de dicha ecuación le otorgaría una mayor aproximación matemática sobre las curvas (17, 21 y 22).

Parámetros k y n de la ecuación de page

Una vez seleccionada la ecuación de Page como la de mejor ajuste, se logró establecer una relación del tipo logarítmica entre el parámetro k y la velocidad del aire de secado, con un R^2 de 99,8%, obteniéndose una ecuación del tipo:

$$k = 0,0889 \ln(v \text{ aire}) + 0,0986 \quad (\text{Ec.5})$$

Esta expresión muestra que el valor de k se incrementa a medida que aumenta la velocidad de aire. No se logró ajustar los valores del parámetro n a ningún modelo matemático, los R^2 eran menores a 85% en todos los modelos analizados (lineal, logarítmico, exponencial y potencial); se optó por tomar un valor promedio entre las tres velocidades de aire y considerarlo constante ($0,687 \pm 0,169$).

No se encontró bibliografía referente al análisis de los parámetros k y n de la ecuación de Page en función de la velocidad de aire en fideos, por lo que se recurrió a comparar con el efecto de los mismos en otros productos alimenticios; Sharma, Verma y Pathare (2005) [23] ajustaron el secado de rebanadas de cebollas mediante un secador infrarrojo convectivo al modelo de Page, observando que solo la constante k del modelo dependía de la temperatura y de la velocidad del aire de secado, mientras que el valor de n solo era dependiente de la temperatura y no de la velocidad de aire; coincidiendo con el presente trabajo.

Conclusión

A partir de la gráfica de cinética de secado, se concluyó que los fideos presentaron una curva del tipo exponencial, que depende de la velocidad del aire de secado. Los tiempos de secado de los fideos elaborados variaron de manera inversamente proporcional a la velocidad del aire de secado. De acuerdo a los resultados estadísticos obtenidos, el modelo de Page fue el que presentó el mejor ajuste de los datos experimentales, por lo que podría utilizarse como una buena herramienta para el cálculo estimado del tiempo de secado de los fideos libres de gluten analizados.

Lista de abreviaturas

XR = Relación de humedad

Xt (b.s.) = humedad a un tiempo t en base seca.

X0(b.s.) = humedad inicial en base seca

k, n y a = parámetros o constantes de secado

MAE = Error Absoluto Medio

CME = Cuadrado del Error Medio

v aire = velocidad del aire de secado

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad Nacional de Misiones (UNaM), el financiamiento del proyecto de investigación: “Fortificación de fideos secos a base de fécula de mandioca, con proteína de origen animal; características físico-químicas y texturales”. Al Dr. Santiago Holowaty por el apoyo técnico en el manejo de equipos y al alumno Donovan Rivero en la preparación de las muestras.

Bibliografía

1. Markowski, M.; Cenkowski, S.; Hatcher, D. W.; Dexter, J. E. y Edwards N. M. *The effect of superheated-steam dehydration kinetics on textural properties of asian noodles*. American Society of Agricultural Engineers. 46(2): p. 389-395. 2003.
2. Geankoplis, C.J. *Proceso de transporte y operaciones unitarias*. Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V., México. p. 579-609. 3era edición, 1998.
3. Código Alimentario Argentino (CAA). *Capítulo IX (Alimentos Farináceos)*, Artículo 707. Actualización 2018.
4. Oti-Boateng, P. y Axtell, B. *Técnicas de secado. Libro de consulta sobre tecnologías aplicadas al ciclo alimentario*. Intermediate Technology Development Group. Peru. P. 70. 2da Edición. 1998.
5. Krokida, M. K.; Karathanos, V.; Maroulis, Z. y Kouris, D. M. *Drying kinetics of some vegetables*. *Journal of Food Engineering*. 59(4): p. 391-403. 2003.
6. Veladat, R.; Zokaee Ashtiani, F.; Rahmani, M. y Miri, T. *Review of numerical modeling of pasta drying, a closer look into model parameters*. *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering*, 7(2): p. 159-170. 2012.
7. Larrosa, V.; Lorenzo, G.; Zaritzky, N. y Califano, A. *Modelado matemático del secado de pastas libres de gluten en relación a la temperatura y humedad relativa del aire*. *Revista del laboratorio tecnológico del Uruguay (IN-NOTEC)*. 11: p. 54-58. 2016.
8. Johnston, K. W. y Dintheer, W. *Pasta and semolina technology. Capítulo 6: Pasta drying*. Editores: Kill, R. C. y Turnbull, K. p. 158-175. 2000.
9. Marchylo B. A. y Dexter J. E. *Cereal Processing Technology. Capítulo: Pasta production*. Editor: Owens G., 1ra Edición. Woodhead Publishing Limited, Inglaterra. 2001.
10. De Temmerman, J.; Verbovena, P.; Delcour, J. A.; Nicolaï, B. y Ramona, H. *Drying model for cylindrical pasta shapes using desorption isotherms*. *Journal of Food Engineering*, 86(3), pp. 414-421. 2007.
11. Migliori, M.; Gabriele, D.; de Cindio, B. y Pollini, C. M. *Modelling of high quality pasta drying: mathematical model and validation*. *Journal of Food Engineering*, 69(4), pp. 387-397. 2005.
12. Collazo-Abreu, P. L.; Morejón-Mesa, Y.; Fernández-Chuairey, L. y Vázquez-Alfonso Y. *Modelos matemáticos y experimentales para el análisis del secado solar de semillas*. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 27(1), pp. 89-98. 2018.
13. Aversa, M.; Curcio, S.; Calabro, V. y Iorio, G. *An analysis of the transport phenomena occurring during food drying process*. *Journal of Food Engineering*, 78, pp. 922-932. 2007.
14. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods 925.09: Moisture*. Air Oven Methods: Official Methods of Analysis of AOAC International, 2005.
15. Inazu, T.; Iwasaki, K. y Furuta, T. *Effect of air velocity on fresh Japanese noodle (Udon) drying*. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.* 36(2), pp. 277-280. 2003.
16. Andrieu, J. y Stamatopoulos, A. A. *Durum Wheat Pasta Drying Kinetics*. *Lebensm.-Wiss Technol*, 19(6), 448-456. 1986.
17. Azzouz, S.; Guizani, A.; Jomaa, W y Belghith, A. *Moisture diffusivity and drying kinetic equation of convective drying of grapes*. *Journal of Food Engineering*, 55(4), pp: 323-330. 2002.
18. Kaushal, P. y Sharma, H. K. *Convective dehydration kinetics of noodles prepared from taro (Colocasia esculenta), rice (Oryza sativa) and pigeon pea (Cajanus cajan) flours*. *Agric Eng Int: CIGR Journal*, 15 (4), pp. 202-212. 2013.
19. Kongkiattisak, P. y Songsermpong, S. *Effect of temperature and velocity of drying air on kinetics quality and energy consumption in drying process of rice noodles*. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 46, pp: 603 - 619. 2012
20. Diamante, L. M. y Munro, P. A. *Mathematical modeling of hot air drying of sweet potato slices*. *International Journal of Food Science and Technology*. 26(1), pp: 99-109. 1991.
21. Doymaz, I. *Drying characteristics and kinetics of okra*. *Journal of Food Engineering* 69(3), pp: 275-279. 2005.
22. Mwithiga, G. y Olwal, J. O. *The drying kinetics of kale (Brassica oleracea) in a convective hot air dryer*. *Journal of Food Engineering*, 71(4), pp: 373-378. 2005.
23. Sharma, G. P.; Verma, R. C. y Pathare, P. *Mathematical modeling of infrared radiation thin layer drying of onion slices*. *Journal of Food Engineering*, 71(3), pp: 282-286. 2005.

Recibido: 14/03/2019.

Aprobado: 22/07/2019.

Análisis ambiental preliminar y georreferenciamiento del río Mumbuca en Monte Carmelo – MG, Brasil

Preliminary environmental analysis and georeferencing of Mumbuca stream of Monte Carmelo – MG, Brazil

Análise ambiental preliminar e georreferenciamento do córrego Mumbuca em Monte Carmelo – MG, Brasil

Maria L. Bolanos Rojas^{1,*}, Raquel N. Fernandes Silva¹, Edmar Isaias de Melo²,
Jugurta Vieira Neto³, Gabriel Da Costa Resende³, Lucas França Máximo³

1- Universidade Federal de Uberlândia, Faculdade de Engenharia Civil, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

2- Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Química, Monte Carmelo, Minas Gerais, Brasil.

3- Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Geografia, Monte Carmelo, Minas Gerais, Brasil.

* E-mail: marialyda@ufu.br

Resumen

Conocer el estado ambiental de las cuencas hidrográficas de forma precisa y correcta es fundamental para garantizar su preservación y calidad de vida de las poblaciones. La georreferenciación proporciona datos geográficamente definidos que representan la situación real de la localización del río estudiado. En este trabajo, se realizó la georreferenciación de la localización del Río Mumbuca, ubicado en el municipio de Monte Carmelo - MG, basado en levantamiento por métodos geodésicos. La construcción cartográfica del Río Mumbuca, generó un mapa con su localización, desde la naciente hasta la desembocadura, atravesando áreas rurales y urbanas del municipio. En las áreas urbanas se observó que medidas más incisivas, en relación a la planificación para preservar el río, como proteger la mata ciliar, retirar lanzamientos de aguas residuales sin tratamiento y residuos sólidos de las márgenes, deben ser puestas en práctica, permitiendo así que el Río Mumbuca continúe proporcionando agua segura para esta población.

Palabras clave: Georreferenciación; Cuenca hidrográfica; Recurso hídrico; Mapa; Planificación.

Abstract

Knowing the environmental state of the watershed accurately and correctly is fundamental to guarantee their preservation and the quality of life of the populations. Georeferencing provides geographically defined data that represent the actual situation of the river to be studied. In this paper, the georeferencing of the Mumbuca River, located in the city of Monte Carmelo - MG, was performed based on the survey by geodetic methods. The cartographic construction of the Mumbuca Stream resulted in a location map of the stream, from the source to the mouth, crossing part of the rural and urban area of the city. In the urban area, it was observed that more incisive measures in relation to planning for stream conservation, such as protection of riparian forest, withdrawal of untreated sewage and solid waste from the riverside, should be put into practice, thus allowing the Mumbuca Stream continues to provide safe water for this population.

Keywords: Georeferencing; Watershed; Water resources; Map; Planning.

Resumo

Conhecer o estado ambiental das bacias hidrográficas de forma precisa e correta é fundamental para garantir a sua preservação e a qualidade de vida das populações. O georreferenciamento fornece dados geograficamente definidos que representam a situação real do rio a ser estudado. Neste trabalho, realizou-se o georreferenciamento da localização do Córrego Mumbuca, localizado no município de Monte Carmelo – estado de Minas Gerais, com base no levantamento por métodos geodésicos. A construção cartográfica do Córrego Mumbuca, resultou em um mapa com a sua localização, desde a nascente até a foz, atravessando áreas rurais e urbanas do município. Na área urbana observou-se que medidas mais incisivas em relação ao planejamento para a conservação do córrego, como proteção da mata ciliar, retirada de lançamentos de esgoto sem tratamento e de resíduos sólidos

das margens, devem ser colocadas em prática, permitindo assim que o córrego Mumbuca continue fornecendo água (segura) para esta população.

Palavras-chave: Georreferenciamento; Bacia hidrográfica; Recurso hídrico; Mapa; Planejamento.

INTRODUÇÃO

Georreferenciamento é a atribuição de coordenadas a determinado objeto no espaço em relação a um Sistema Geodésico de Referência (SGR).

Este processo inicia-se com a obtenção das coordenadas dos pontos de detalhe que definem tal feição que posteriormente gerará um produto, que pode ser uma carta ou um mapa. Para obtenção destas coordenadas existem diferentes técnicas de mensuração dentre elas, a topografia, a fotogrametria, sensoriamento remoto, ou mesmo as técnicas de posicionamento geodésico.

O georreferenciamento da localização da bacia do Córrego Mumbuca, localizado no município de Monte Carmelo – Minas Gerais, Brasil, teve como principal objetivo auxiliar na construção da representação cartográfica do mesmo, dentro dos perímetros urbano e rural e auxiliar de forma qualitativa na avaliação preliminar da situação ambiental do córrego.

Para o levantamento de campo foram utilizados instrumentos e apoio dos técnicos do Laboratório de Topografia e Geodésia (LTGEO) do curso de Engenharia de Agrimensura e Cartográfica, da Universidade Federal de Uberlândia Campus Monte Carmelo – Minas Gerais, Brasil. A continuação apresenta-se uma descrição dos sistemas de posicionamento geodésico mais utilizados.

Sistema Geodésico de Referência (SGR)

O SGR é definido sobre um elipsoide, este por sua vez materializado e densificado com origem no centro de massa da Terra para os sistemas geocêntricos ou em algum ponto na superfície de sistemas topocêntricos. Vale lembrar que se considera a materialização, como levantamentos realizados a priori da definição deste dado sistema, com o intuito de definir os parâmetros de origem, orientação e escala [1].

O SIRGAS 2000 é o sistema de referência utilizado em levantamentos em território nacional desde 2015, quando foi adotado como único sistema geodésico de referência oficial no Brasil [2].

Sistema Satélite de Navegação Global (GNSS)

O GNSS é um sistema de rádio navegação que tem como intuito determinar a posição, tridimensional, de um ponto qualquer sobre a superfície terrestre ou bem próxima a ela. A posição desejada é determinada a partir do método de trilateração. Neste método os resultados obtidos para as coordenadas, no ponto de interesse são ligados direta-

mente à qualidade da distância mensurada até o satélite e a coordenada do mesmo. Estas coordenadas estão ligadas ao tempo, e são calculadas por meio de informações contidas no arquivo de navegação enviado pelo satélite [3].

Os dados transmitidos pelo satélite ao usuário consistem nos sinais de tempo, efemérides transmitidas que por sua vez incidem nos componentes keplerianos de sua órbita e os códigos de navegação modelados sobre fase da onda portadora. Por meio destes dados e parâmetros são calculadas as coordenadas do satélite e a distância até o receptor GNSS implantado sobre o ponto de interesse. Onde as coordenadas do receptor são geradas a partir do processo de trilateração. Porém, para que isto seja feito se faz necessário de no mínimo quatro satélites, três para posicionamento x, y, z e um para determinar o tempo, visto que não há sincronismo entre o relógio do satélite e do receptor [4].

Entretanto, existem alguns erros que deterioram as observações que necessitam ser tratados, a fim de que a precisão do posicionamento não seja degradada. Dentre eles se encontram os erros devido ao relógio do satélite, órbitas, efeitos atmosféricos, erro do relógio do receptor e efeito do multicaminho. Portanto, o tratamento se faz necessário devido à impossibilidade de o modelo matemático (elipsoide de revolução) representar a realidade física com tamanha fidelidade. A maioria dos erros envolvidos pode ser minimizada no posicionamento relativo e através de técnicas de processamento [5].

Posicionamento absoluto

Segundo [6], o método de posicionamento absoluto caracteriza-se pelo uso de apenas uma antena receptora como apresentado na Figura 1 para a determinação de coordenadas obtidas no sistema de referência do GPS, WGS- 84 (World Geodetic System, 1984), que para fins de georreferenciamento podem ser tomadas como SIRGAS 2000.

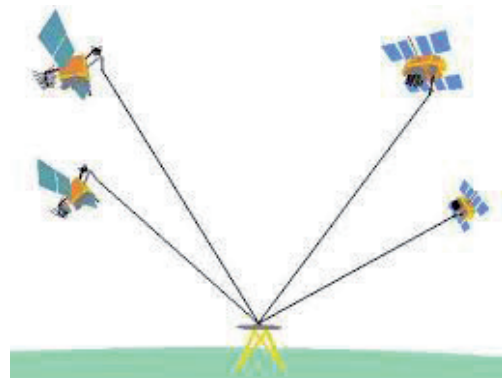


Figura 1: Princípio do posicionamento por ponto [7]. Posicionamento relativo

O princípio básico do posicionamento relativo é minimizar as fontes de erro por meio da diferença entre observações recebidas simultaneamente por receptores que ocupam dois ou mais pontos distintos no espaço. No posicionamento relativo, as coordenadas são determinadas em relação a um referencial materializado por meio de uma ou mais estações com coordenadas conhecidas. Neste caso, é necessário que pelo menos um par de receptores colem dados de, no mínimo, dois satélites simultaneamente, onde um dos receptores deve ocupar a estação com coordenadas conhecidas, denominada de estação de referência ou estação base como pode ser visto na Figura 2 [2].

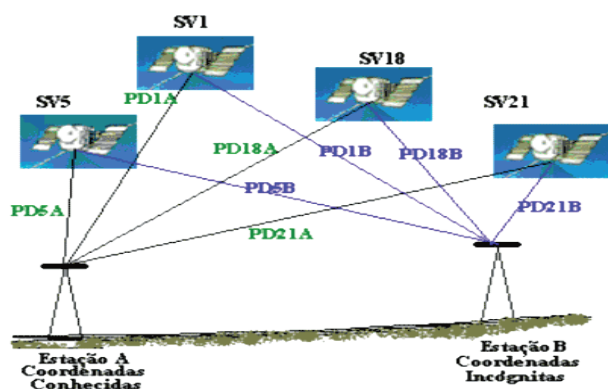


Figura 2: Princípio do Posicionamento Relativo [2].

De acordo com [2] dentre os métodos de posicionamento relativo se enquadram o posicionamento estático e cinemático. No estático como o próprio nome sugere, as coordenadas são determinadas com ambos receptores em repouso durante o levantamento; no cinemático o receptor sobre o ponto conhecido (Base) permanece em repouso enquanto que o receptor utilizado para determinar os pontos de interesse (Rover), se mantém em movimento.

Este tipo de levantamento tem como intuito alcançar maior precisão nas coordenadas obtidas para os pontos de interesse, já que conhecendo as coordenadas em que se encontra a base se calcula apenas o valor do deslocamento nas componentes da abscissa (x), da ordenada (y), da normal (z), sendo que os modelos matemáticos de correções para estes componentes são menos complexos do que os demais existentes [3].

Posicionamento relativo estático

No posicionamento relativo estático, tanto o receptor da estação referência (Base), quanto o receptor (Rover) da estação “n” com coordenadas a determinar, permanecem estacionários durante todo o levantamento. O tempo de espera varia de acordo com a linha de base (distância entre os receptores) e obstáculos físicos que interferem na recepção do sinal [3], como apresentado na Tabela 1.

Tabela 1: Precisão do Posicionamento Relativo [2].

Linha de base	Tempo de observação	Precisão
00 - 05 km	05 - 10 min	5 - 10 mm + 1 ppm
05 - 10 km	10 - 15 min	5 - 10 mm + 1 ppm
10 - 20 km	10 - 30 min	5 - 10 mm + 1 ppm
20 - 50 km	02 - 03 hr	5 mm + 1 ppm
50 - 100 km	Mínimo 03 hr	5 mm + 1 ppm
> 100 km	Mínimo 04 hr	5 mm + 1 ppm

Posicionamento Relativo Cinemático

Segundo [2], apesar de menos preciso o posicionamento relativo cinemático é mais dinâmico e rápido, já que apenas o receptor da estação referência (Base) permanece estacionado, enquanto o receptor a determinar as coordenadas da feição de interesse (Rover) mantém-se em movimento, coletando pontos em intervalos de tempo ou distância determinados pelo operador.

Posicionamento Relativo Cinemático em Tempo Real

O *Real Time Kinematic* configura-se como um método de posicionamento cinemático em tempo real, que doravante será utilizada a sigla RTK para sua identificação. Seu funcionamento é baseado no modo diferencial, onde as correções dos sinais dos satélites são transmitidas, em tempo real, da estação de referência (Base), para uma estação na qual se desejam determinar suas coordenadas (Rover), como apresentado na Figura 3. Normalmente as correções são transmitidas via rádio UHF aos receptores móveis, os quais são instalados juntamente com um receptor, em uma estação de coordenadas conhecidas [3].

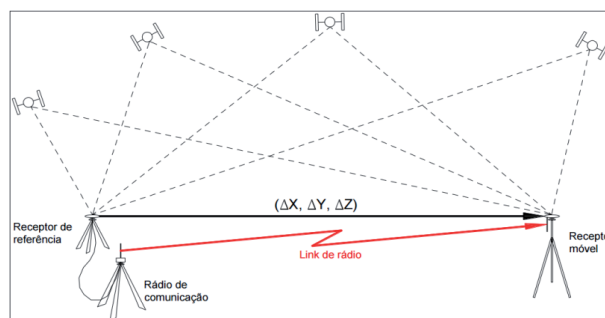


Figura 3: Posicionamento RTK. [8]

A coleta de coordenadas precisas em tempo real faz com que o RTK seja uma ótima opção na coleta de dados, porém o uso desta técnica em ambiente urbano, florestas e local de topografia acidentada é pouco viável, visto que estes ambientes apresentam variáveis que podem degradar o sinal do rádio e até mesmo a recepção de sinal de satélite, o que pode interferir na precisão das coordenadas coletadas [3].

Materiais e métodos

Foi realizada uma saída de campo para conhecer o local que seria levantado, e assim definir quais seriam os instrumentos e métodos utilizados para o georreferenciamento, durante a pesquisa.

Após análises das condições da localização e o percurso que o córrego realiza, foram escolhidos os métodos de posicionamento relativo estático e absoluto.

A metodologia seguida consistiu no levantamento dos pontos de detalhe do córrego Mumbuca, com o auxílio de receptores GNSS. O processamento destes pontos foi realizado em laboratório para finalmente gerar uma carta representativa do córrego dentro do município.

Na área urbana, na nascente e na foz, os pontos foram levantados pelo método de posicionamento relativo estático, visando um melhor detalhamento destas áreas, dado que este método é o que apresenta maior precisão.

Na zona rural utilizou-se o posicionamento absoluto cinemático, devido a que esta área está ocupada principalmente por mata ciliar e é em alguns pontos inacessível por terra. Esta técnica foi utilizada para levantar o trecho a montante da cidade de Monte Carmelo, já que não apresenta características de possível poluição, enquanto que o trecho a jusante do perímetro urbano da cidade de Monte Carmelo foi levantado por meio de sensoriamento remoto, visto que alguns pontos são inacessíveis, por terra e pelo córrego devido ao alto potencial de poluição da água. As observações no trecho de montante e no trecho de jusante foram avaliações preliminares e de forma qualitativa em visitas realizadas ao local de estudo, portanto, a quantificação do grau de poluição do Córrego, será objetivo de estudos posteriores.

Em campo foram utilizados três receptores da marca Astech modelos Promark 100, 200 e 500, sendo o último utilizado como *Base* e os demais como *Rover*. Também foi utilizado um Mobile Mapper de mesma marca utilizado para o posicionamento absoluto.

No laboratório LTGEO todos os dados coletados pelos receptores ProMark foram processados no *Software GNSS Solutions*, aplicativo disponibilizado pela Empresa Alezi Teodolone para a Universidade na compra dos receptores ProMark.

Estes pontos foram exportados para o Quantum GIS (QGIS), com o fim de servirem como base para representação do córrego dentro da carta, junto ao arquivo do tipo *Shape File* da malha municipal do estado de Minas Gerais para representação do município, paralelamente a imagem do *Google* foi importada para o QGIS, para criação do polígono representativo da cidade.

Resultados e discussão

Dentre os principais resultados, se encontra o mapa representativo do Córrego Mumbuca inserido dentro da cidade de Monte Carmelo, como apresentado na Figura 4.

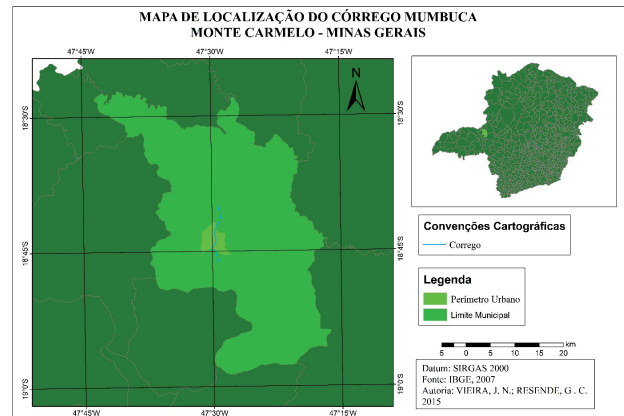


Figura 4: Mapa de localização do Córrego Mumbuca em Monte Carmelo – Minas Gerais, Brasil.

No relatório de processamento pode se notar que os pontos levantados estão dentro da precisão mínima (3,0 metros para limites naturais) dada pelo [8], para georreferenciamento no Manual Técnico de Posicionamento. Verificando assim, a postura coerente dos operadores com os instrumentos em campo para o método utilizado.

Estes pontos levantados podem servir de apoio para o monitoramento do Córrego Mumbuca, por profissionais da área sanitária e ambiental ou órgãos competentes, uma vez que estes pontos descarregados em um receptor de navegação servem para navegar até dado ponto de interesse. Pode ser utilizado também para o planejamento em torno do Córrego Mumbuca.

O mapa mostra que grande parte do Córrego Mumbuca se encontra dentro do perímetro urbano, indicando a possibilidade de ocorrência de lançamento de efluentes, ao longo do córrego, uma vez que a densidade demográfica e a quantidade de resíduos gerados na zona urbana é provavelmente maior do que na zona rural.

A observação anterior está fundamentada na identificação de lançamentos indevidos de esgoto ao longo do Córrego Mumbuca, cujos pontos foram registrados com fotografias, de acordo com a Figura 5.

Características típicas das águas residuárias como coloração, cheiro desagradável (similar a ovo podre) e formação de grande quantidade de espuma, permitem inferir de forma qualitativa, que o córrego em pontos localizados, aparentemente recebe contribuição indevida de águas residuárias sem tratamento, além de observar nas suas margens quantidade significativa de resíduos sólidos.

Visando, inicialmente uma análise preliminar e qualitativa, observou-se que a área urbana apresenta porcentagem de Área de Preservação Permanente (APP) remanescente aparentemente menor do que a área rural, a quantificação destas áreas serão objetivo de estudos posteriores.



Figura 5: Pontos identificados de lançamento indevido de esgoto ao longo do Córrego Mumbuca

Conclusões

Foi realizado o georreferenciamento da localização do Córrego Mumbuca, desde a nascente até a foz, atravessando áreas rurais e urbanas do município de Monte Carmelo, Minas Gerais, Brasil, gerando um mapa que auxilia na formulação de diretrizes para o planejamento da bacia do Córrego Mumbuca.

Durante o levantamento notou-se que o planejamento para a conservação do córrego, deve ser mais incisivo. Foram registrados vários lançamentos diretos da rede de esgoto ao longo do Córrego Mumbuca, o que mostra a urgência da construção de interceptores margeando o córrego para coleta desses efluentes.

Enquanto essa solução chega, recomenda-se que me-

didadas como educar ambientalmente a população visando a adoção de atitudes de não desperdício de água para gerar menos águas residuárias, recompor a mata ciliar do córrego em seu trajeto pela cidade, proteção de suas margens, não lavar calçadas e carros com mangueiras, não deixar torneiras abertas, evitar vazamentos, ajudaria a minimizar a poluição que pode impactar negativamente a qualidade da água do córrego.

Considerando que os dados coletados com os instrumentos geodésicos não foram suficientes para a análise da situação da bacia hidrográfica, sugere-se que estudos futuros sejam realizados com este objetivo.

Recomenda-se também para estudos posteriores a criação de cartas politemáticas, uma vez que cruzando dados obtidos com o georreferenciamento e resultados de

análises físico-químicas da água do Córrego Mumbuca, será possível fazer uma análise espacial da real situação ambiental do Córrego Mumbuca.

Agradecimentos

Ao CNPQ pela confiança, sem a qual seria impossível a realização deste trabalho. Ao laboratório LTGEO - Laboratório de Topografia e Geodésia do Campus de Monte Carmelo e à Faculdade de Engenharia Civil – FECIV, da Universidade Federal de Uberlândia, pelo amparo tecnológico e estrutural para a realização deste trabalho. Ao DMAE – Departamento Municipal de Água e Esgoto de Monte Carmelo – MG, pela colaboração com as informações fornecidas para guiar a equipe na localização da nascente e da foz do córrego, sem a qual demandaria de maior tempo para execução do georreferenciamento.

Bibliografia

1. Dalazoana, R. *Implicações na cartografia com a evolução do sistema geodésico brasileiro e futura adoção do SIRGAS*. 2001. 75 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Ciências Geodésicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2001. Disponível em: <http://www.cartografica.ufpr.br/home/wpcontent/uploads/2014/04/Dissertacao_Regiane.pdf>. Acesso em: 24 jul. 2015.
2. IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Geodésia - FAQ (Frequently Asked Questions - Perguntas Mais Frequentes)*. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/geociencias/geodesia/pmrq/faq.shtm>>. Acesso em: 24 jul. 2015.
3. MONICO, J. F. G. *Posicionamento pelo GNSS: descrição, fundamentos e aplicações*. São Paulo: Unesp. 2008. 287p.
4. TIMBÓ, M. A. *Levantamento Através do Sistema GPS*. 2000. 36 f. Trabalho de Conclusão de Curso - Departamento de Cartografia, Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, Minas Gerais.
5. POLEZEL, W. G. C.; SOUZA, E. M.; MONICO, J. F. G. *Método de Posicionamento Relativo por Satélite GPS com Correção do Efeito do Multicaminho em Estações de Referência: Formulação Matemática, Resultados e Análises*. TEMA. Tendências em Matemática Aplicada e Computacional, v. 9, p. 133-142, 2008.
6. KRUEGER, C.P. *Posicionamento por Satélites*. Apostila do curso de especialização em geotecnologias. Universidade Federal do Paraná, 2006.
7. IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Recomendações para levantamentos relativos estáticos*. Brasília: IBGE, 2008. 35 p. Disponível em: <ftp://geoftp.ibge.gov.br/documentos/geodesia/pdf/recom_gps_internet.pdf>. Acesso em: 25 mar. 2015.
8. INCRA. Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária. *Manual Técnico de Posicionamento*. 2013. 1º edição. Disponível em: <https://sigef.incra.gov.br/static/documentos/manual_tecnico_posicionamento_1ed.pdf>. Acesso em 19 fev. 2015.

Recibido: 20/03/2019.

Aprobado: 12/08/2019.

Evaluación de la calidad del agua del embalse Mbói Caé

Water quality assessment of the Mboi Cae reservoir

J. Weseluk^{1,*}, F. Vergara¹, V. Berestovoy²

1- Escuela de Posgrado, Universidad Nacional de Itapúa, Encarnación, Paraguay

2- Facultad de Ciencias y Tecnología, Universidad Nacional de Itapúa, Encarnación, Paraguay

* E-mail: jcweseluk@gmail.com

Resumen

La modificación del régimen hidrológico del arroyo Mbói Caé constituyó un cambio importante en la ciudad de Encarnación y alrededores que ha beneficiado a las poblaciones con la generación de energía hidroeléctrica, las actividades recreativas, la disponibilidad de agua, etc. La presente investigación tiene el objetivo de analizar la calidad del agua del embalse Mbói Caé del departamento de Itapúa mediante el Índice de Calidad de Agua según el Sistema Holandés de Valoración y el Índice de Contaminación ICOTRO basado en la concentración de fósforo total en el periodo noviembre del año 2017 a septiembre del año 2018. Los resultados concluyeron que, teniendo en cuenta los parámetros de oxígeno disuelto, demanda bioquímica de oxígeno y nitrógeno amoniacal, el área de estudio se encuentra categorizada con contaminación incipiente y, por otra parte, se caracteriza como eutrófico por fósforo.

Palabras clave: Calidad de agua; Demanda bioquímica de oxígeno; Fósforo total; Nitrógeno amoniacal; Oxígeno disuelto.

Abstract

The modification of the hydrological regime of the Mbói Caé stream was an important change in the city of Encarnación and surroundings benefiting the populations with the generation of hydroelectric energy, recreational activities, the availability of water, etc. The objective of this research is to analyze the water quality of the Mbói Caé reservoir in the Itapúa department through the Water Quality Index according to the Dutch Valuation System and the ICOTRO Contamination Index based on the total phosphorus concentration in the period November 2017 to September 2018. The results concluded that, taking into account the parameters of dissolved oxygen, biochemical demand of oxygen and ammoniacal nitrogen, the studied area is categorized with incipient contamination and, on the other hand, it is characterized as eutrophic by phosphorus.

Keywords: Ammonia nitrogen; Biochemical oxygen demand; Dissolved oxygen; Total phosphorus; Water quality.

Introducción

Según el último informe mundial de las Naciones Unidas sobre el desarrollo de los recursos hídricos se espera que el uso doméstico del agua, que representa aproximadamente el 10% de las extracciones de agua a nivel mundial, aumente significativamente durante el período 2010-2050 en casi todas las regiones del mundo y que la demanda mundial para la producción agrícola y la energía (principalmente alimentación y electricidad), ambas con un uso intensivo de agua, aumenten aproximadamente un 60% y un 80% respectivamente antes de 2025 [19], lo que sumado a las consecuencias del cambio climático supone riesgos en la disponibilidad de agua para las poblaciones; por ello es importante asegurar la calidad a fin de evitar limitaciones en sus usos [20].

La disponibilidad de agua dulce constituye uno de los

problemas más críticos referente a recursos naturales, y la construcción de embalses ha sido un método utilizado frecuentemente para garantizar la disponibilidad del agua; sin embargo se debe tener en cuenta que para lograr su sostenibilidad es necesario mantener su calidad [3].

En los últimos años, la cantidad de embalses construidos por el hombre ha aumentado debido a la necesidad de abastecer de agua, alimentos y energía a la población. Cuando en un sistema fluvial se sitúan varios embalses en la misma cuenca, se origina un efecto en cascada por la liberación del agua río abajo, produciendo modificaciones en la calidad del agua [15].

Los índices de calidad de agua son herramientas que permiten diagnosticar la calidad de agua de un cuerpo superficial o subterráneo en un tiempo determinado; por medio de ellos se realiza un análisis general de la calidad del agua en diferentes niveles, y se determina la vulnera-

bilidad del cuerpo frente a amenazas potenciales. Actualmente existen diferentes metodologías para calcular estos índices, las que se diferencian en las formas de cálculo y en los parámetros utilizados [5].

Uno de los índices utilizado es el “Índice holandés de valoración de la calidad para los cuerpos de agua superficiales” que se basa en la obtención de un puntaje de acuerdo a varios parámetros analizados: la demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5), el oxígeno disuelto (OD) y el nitrógeno amoniacal (N-NH_4^+) [17].

El parámetro de demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5) es una medida del oxígeno consumido en la oxidación de la materia orgánica por acción bacteriana e indica la cantidad de materia orgánica vertida en un cuerpo de agua [6].

El oxígeno es fundamental para la mayoría de los organismos vivos dada su dependencia del proceso de respiración aeróbica para la generación de energía y para la movilización del carbono en la célula; por ello se considera una de las variables más importante para el estudio de la calidad del agua [2]. En los embalses, la concentración de oxígeno disuelto varía dependiendo del incremento de la productividad biológica como resultado de la entrada de nutrientes y de materia orgánica, del patrón de distribución térmica, de su estado trófico, de su ubicación geográfica, morfometría y condiciones meteorológicas [3].

El N-Amoniacal es otro parámetro para diagnosticar la calidad del agua, puesto que en su forma libre como amoniacal es tóxico para los peces; y esta toxicidad depende del pH y temperatura del agua. Su presencia es relacionada a la descarga directa o a la degradación de la materia orgánica nitrogenada [6].

Este índice mencionado es utilizado como metodología para determinar la calidad del agua en Costa Rica por Decreto Ejecutivo N° 33903 del año 2007, en su artículo 19 establece que “La calidad físico-química y biológica de un cuerpo de agua superficial se establecerá haciendo uso del Índice de Clasificación Holandés de Valoración y el Índice Biológico” [12].

Los Índices de Calidad del Agua han sido importantes en el contexto ecológico y medio ambiental pero presentan desventajas relacionadas con la falta de información, por ello se desarrollaron los Índices de Contaminación, los cuales son complementarios en sentido ecológico y permiten precisar problemas ambientales [13].

Uno de estos índices es el ICOTRO o Índice de Contaminación Trófico que se calcula en base a la concentración de fósforo total en las aguas [13].

El fósforo es un nutriente esencial para los organismos vivientes y es considerado como un parámetro crítico en la calidad de aguas debido a su influencia en el proceso de eutrofización [16].

Los principales factores que regulan el crecimiento de las malezas acuáticas son la luz y los nutrientes; y entre estos los que más regulan el crecimiento de las plantas

acuáticas son el carbono, el nitrógeno y el fósforo. El fósforo es considerado el más influyente en el crecimiento de las plantas; una pequeña adición de fósforo al agua resulta en un aumento considerable en la biomasa de las plantas [1].

El fósforo se relaciona con el proceso de eutrofización y generalmente se debe a la presencia del contaminante en la descarga cloacal [11].

El nitrógeno y el fósforo en el agua del embalse de Danjiangkou, China provienen de sus afluentes, y por lo tanto, las medidas más efectivas para prevenir y curar la proliferación de algas y la eutrofización del agua es controlar la cantidad total de contaminantes en cada uno de estos afluentes [9].

En un estudio de caso de las corrientes de agua que alimentan el reservorio de agua potable de Zelivka, República Checa, se encontró que el fósforo era el nutriente limitante para el crecimiento del fitoplancton y, por lo tanto, se lo atribuyó como factor principal responsable de las tasas de eutrofización del reservorio, y que probablemente podría controlarse de manera efectiva mediante acciones concertadas de reducción [8].

Un estudio en el reservorio Saguling de Indonesia muestra que la concentración de fósforo del reservorio fue de $315.0 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ en promedio en 1999–2013 [10].

Los resultados de un estudio de cinco reservorios durante la temporada de riego de 1995 en la parte baja de la cuenca del río South Platte de Estados Unidos mostraron que los reservorios atrapaban del 20 al 88% del nitrógeno y el fósforo entrantes, excepto el fósforo en un reservorio. Las concentraciones totales de nitrógeno en los reservorios fueron más elevadas en marzo y disminuyeron hasta septiembre, en gran parte como resultado de la captación de algas y otra vida acuática presente [18].

El presente trabajo se centra en la determinación del Índice de Calidad basado en la metodología de Clasificación del Sistema Holandés y la determinación del Índice de Contaminación ICOTRO en el sub-embalse Mbói Caé.

Materiales y Métodos

Ubicación del área de estudio

El área de estudio corresponde a la cuenca baja de la cuenca Mbói Caé del departamento de Itapúa cuya sub-cuenca identificada, según la base de datos de hidrología analítica (AHD), con el número 315173200 y una superficie total de 10.855 km^2 [4].

De los 291 km^2 de la cuenca del Mbói Cae, 52.7 km^2 corresponde a montes nativos, campo libre (pastura) corresponde 160.56 km^2 , cultivos a 41.11 km^2 , agua a 6.16 km^2 y zona urbana 31.13 km^2 [7].

En la Figura 1 se observan los tres puntos (ESM1, ESM2 y ESM3) en donde fue analizado el Oxígeno

Ubicación de los puntos de muestreo en la Cuenca Mbóí Caé

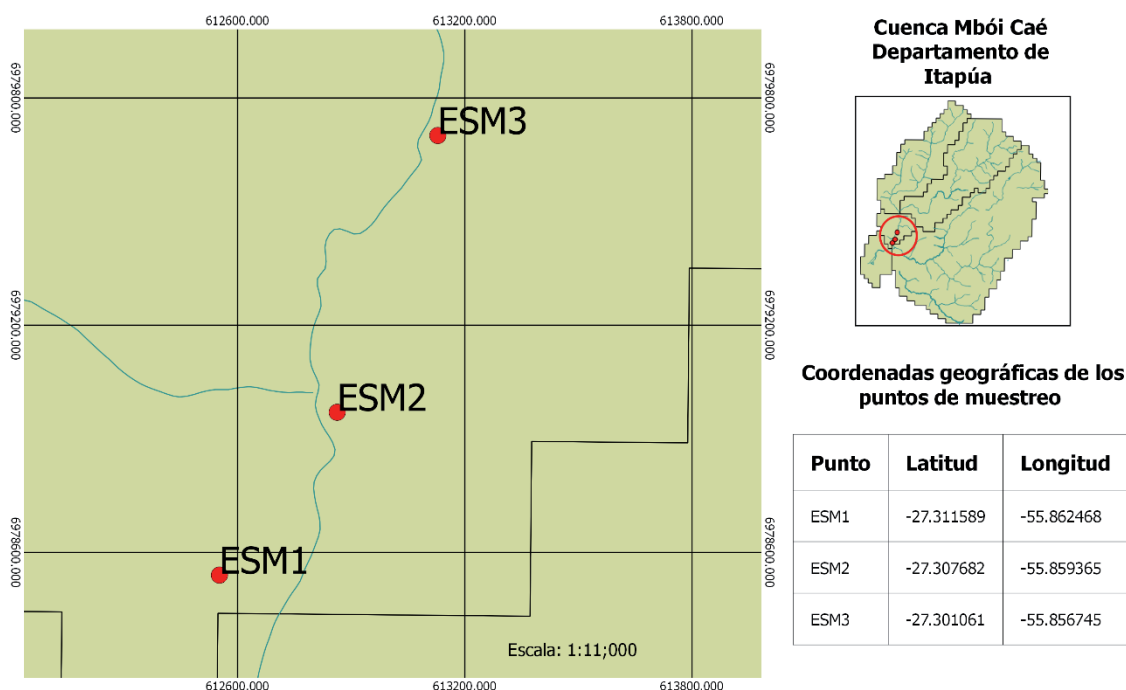


Figura 1: Ubicación de los puntos de muestreo de fósforo total, oxígeno disuelto, demanda bioquímica de oxígeno y nitrógeno amoniacal en la cuenca Mbóí Caé.

Disuelto (sensor de oxígeno), la Demanda Bioquímica de Oxígeno (SM 5210 B), el Nitrógeno Amoniacal (Nessler-NN) y el Fósforo Total (SM 4500-P B y SM 4500-P E) mensualmente durante el periodo noviembre 2017 a septiembre 2018.

Estos análisis fueron realizados bajo dirección de la Entidad Binacional Yacyretá dentro del marco que contempla el *Plan de monitoreo de los sub-embalses de margen derecha del arroyo Mboi Caé*.

ICA Holandés

Según la metodología del código holandés de clasificación por colores, la calidad en términos de estas variables se pondera con una puntuación asignada para cada uno de los parámetros (Porcentaje de Saturación de Oxígeno, DBO₅, N-Amoniacal) en función a los datos que se muestran en la Tabla 1. Según el valor de cada parámetro se asigna el puntaje correspondiente, luego se suman los puntos de cada parámetro y el resultado se compara con los datos de la Tabla 2 [6].

Tabla 1: Puntuación asignada para cada uno de los parámetros en función a su concentración.

Puntos	PSO, %	DBO ₅ , mg/l	N-NH ₄ ⁺ , mg/l
1	91 – 100	< = 3	< 0.50
2	71 – 90	3.1 – 6.0	0.50 – 1.0
	111 – 120		
3	51 – 70	6.1 – 9.0	1.1 – 2.0
	121 – 130		
4	31 – 50	9.1 – 15	2.1 – 5.0
5	< = 30 y > 130	> 15	> 5.0

Fuente: Calvo & Mora, 2007.

Tabla 2: Categorización asignada como calidad de agua según la puntuación obtenida.

Clase	Promedio de puntos	Código de color	Interpretación de calidad
1	3	Azul	Sin contaminación
2	4 – 6	Verde	Contaminación incipiente
3	7 – 9	Amarillo	Contaminación moderada
4	10 – 12	Anaranjado	Contaminación severa
5	13 – 15	Rojo	Contaminación muy severa

Fuente: Calvo & Mora, 2007.

ICOTRO: Índice de contaminación trófico

El ICOTRO se fundamenta en la concentración de fósforo total que define por sí misma una categoría discreta detallada en la Tabla 3 [13].

Tabla 3: Categorización del Índice de Contaminación según la concentración de fósforo total

Categoría	Valor
Oligotrófico	<0.01 g.m ³
Mesotrófico	0.01 – 0.02 g.m ³
Eutrófico	0.02 – 1 g.m ³
Hipereutrófico	>1 g.m ³

Fuente: Ramírez, et al., 1997

Según la Resolución 222/02 que establece el padrón de calidad de agua del territorio paraguayo, la concentración de fósforo admisible para aguas de clase 2 es de 0,05 mg/L [14].

Resultados y discusión**ICA Holandés**

En la Tabla 4 se detallan los códigos de color obtenidos para cada punto de muestreo en cada mes de estudio.

El punto ESM1 y ESM3 presenta en el 73% de los meses analizados contaminación incipiente y el punto ESM2 presenta la categorización de contaminación incipiente en un 55%.

Las variaciones entre las categorías de “contaminación incipiente” y “sin contaminación” se dan por los cambios en el valor del parámetro de Porcentaje de Saturación de Oxígeno; es decir la variación de este parámetro es lo que diferenció las categorizaciones otorgadas por el método utilizado.

Esta variación puede atribuirse a la vegetación acuática presente en la zona que aumenta en algunos meses dependiendo de la temperatura de ambiente principalmente.

Tabla 4: Categorización de ICA basado en el método holandés obtenido para los tres puntos de estudio en el periodo noviembre 2017 a septiembre 2018.

MES	ESM1	ESM2	ESM3
nov-17			
dic-17			
ene-18			
feb-18			
mar-18			
abr-18			
may-18			
jun-18			
jul-18			
ago-18			
sept-18			
Referencias			
	Contaminación incipiente		
	Sin contaminación		

ICOTRO

Las categorías obtenidas en cuanto al Índice ICOTRO en los 3 puntos de estudio en cada mes de estudio se resumen en la Tabla 5.

Tabla 5: Categorización obtenida para el índice ICOTRO basado en la concentración de fósforo total en los tres puntos de muestreo de estudio en el periodo noviembre 2017 a septiembre 2018.

MES	ESM1	ESM2	ESM3
nov-17			
dic-17			
ene-18			
feb-18			
mar-18			
abr-18			
may-18			
jun-18			
jul-18			
ago-18			
sept-18			
Referencia			
	Eutrófico		
	Mesotrófico		

El 94% de los periodos y puntos analizados constituyen la categoría “eutrófico” en la zona analizada.

Las principales actividades de la zona son los campos de cultivo y la urbanización. Ambas actividades aportan fósforo por medio de fertilizantes y residuos cloacales.

Conclusiones

La sub-cuenca aguas abajo de la cuenca Mbói Caé es categorizada con “contaminación incipiente”, esta contaminación se da por la variación del parámetro de oxígeno disuelto.

Por otra parte dicha sub-cuenca es categorizada como eutrófica por fósforo, sin embargo los valores se encuentran dentro de lo permisible por la Resolución 222/02 por la cual se establece el padrón de calidad de aguas en el territorio paraguayo.

Bibliografía

1. Acosta-Arce, L., & Agüero-Alvarado, R. (2006). *Malezas acuáticas como componentes del ecosistema*. Agronomía Mesoamericana, 17 (2), 213-218. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/437/43717209.pdf>
2. Arroyo, V., Millán, C., Castillo, A. & Aguilar, A. (2012). *Acoplamiento de mecanismos de DBO en un modelo CFD para cuerpos de agua*. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. México. Disponible en: <http://repositorio.imta.mx/bitstream/handle/20.500.12013/1499/HC-1209.1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

3. **Betancourt, C. & Labaut, Y. (2013).** *La calidad fisicoquímica del agua en embalses, principales variables a considerar*. Agroecosistemas Vol.1 N°1: 78-103. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/303256205_La_calidad_fisicoquimica_del_agua_en_embalses_principales_variables_a_considerar_Physical-chemical_water_quality_of_reservoirs_a_review_of_the_main_variables
4. **BID. 2016.** *Base de datos de hidrología analítica para América Latina y El Caribe*. Disponible en: <http://sp.hydrobidlac.org/events/?id=111>
5. **Caho, C. & López, E. (2017).** *Determinación del Índice de Calidad de Agua para el sector occidental del humedal Torca-Guaymaral empleando las metodologías UWQI y CWQI*. Producción + Limpia Vol.12, No.2 – 35-49 - DOI: 10.22507/pml.v12n2a3. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/pml/v12n2/1909-0455-pml-12-02-00035.pdf>
6. **Calvo, G. & Mora, J. (2007).** *Evaluación y clasificación preliminar de la calidad de agua de la cuenca del río Tárcoles y el Reventazón*. Parte III: Calidad de cuerpos receptores de agua, según el Sistema Holandés de Valoración. Tecnología en Marcha Vol. 20-4. Disponible en: http://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/452
7. **Global Consultores (2015).** *Informe final: Balance hídrico Cuenca del arroyo Mbói Caé Encarnación*. Entidad Binacional Yaciretá.
8. **Holas, J., Holas, M. & Chour, V. (1999).** *Pollution by phosphorus and nitrogen in water streams feeding the Zelivka drinking water reservoir*. Water Sci Technol (1999) 39 (12): 207-214. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0273-1223(99)00337-6]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0273122399003376>
9. **Liu, Y., Zhu, Y., Qiao, X., Zheng, B., Chang, S. & Fu, Q. (2018).** *Investigation of nitrogen and phosphorus contents in water in the tributaries of Danjiangkou Reservoir*. Royal Society Open Science, 5 (1). doi: [10.1098/rsos.170624] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5792870/>
10. **Marselina, M. & Burhanudin, M. (2018).** *Phosphorus load concentration in tropical climates reservoir for each water quantity class*. Journal of Water and Land Development. 36. 99-104. 10.2478/jwld-2018-0010. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/324178661_Phosphorus_load_concentration_in_tropical_climates_reservoir_for_each_water_quantity_class
11. **Plan Encarnación Más. (2014).** *Plan de desarrollo sustentable y plan de ordenamiento urbano y territorial*. Diagnóstico y objetivos. Encarnación, Paraguay.
12. **Presidencia de la República de Costa Rica. (9 de marzo del 2007).** Decreto Ejecutivo N° 33903: Reglamento para la Evaluación y Clasificación de la Calidad de los Cuerpos de Agua Superficiales. Disponible en: http://www.digeca.go.cr/sites/default/files/de-33903reglamento_evaluacion_clasificacion_cuerpos_de_agua_0.pdf
13. **Ramírez, A., Restrepo, R. & Viña, G. (1997).** *Cuatro índices de contaminación para caracterización de aguas continentales*. Formulación y aplicaciones. CT&F - Ciencia, Tecnología y Futuro, 1(3), 135-153. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-53831997000100009
14. **Secretaría del Ambiente de Paraguay. (22 de abril del 2002).** Resolución N° 222 por la cual se establece el padrón de calidad de aguas en el territorio nacional. Disponible en: http://archivo.seam.gov.py/sites/default/files/resolucion_222_02.pdf
15. **Saldaña, M., Díaz, E. & Gutiérrez, A. (2011).** *Diagnóstico de la calidad del agua en un sistema de embalses en cascada, cuenca del río San Juan, Querétaro, México*. Tecnología y ciencias del agua Vol. 2 N° 3. Versión Online ISSN 2007-2422. Disponible en: www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-24222011000300008
16. **Sánchez, J. (2001).** *El fósforo, parámetro crítico de calidad de agua*. Técnicas analíticas y de muestreo. Disponible en: <http://www.ingenieroambiental.com/junio/fosforo.pdf>
17. **Serna, J., Sánchez, J. & Rodríguez, J. (2016).** *Índices de calidad en cuerpos de agua superficiales en la planificación de los recursos hídricos*. Revista Logos Ciencia & Tecnología ISSN 2145-549X | ISSN 2422-4200, Vol. 8, N°. 1. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/311864221_Indices_de_calidad_en_cuerpos_de_agua_superficiales_en_la_planificacion_de_los_recursos_hidricos
18. **Sprague, L.A., Kimbrough, R.A. & Ranalli, A.J. (2002).** *What happens to nutrients in offstream reservoirs in the lower South Platte River Basin?*. USGS Fact Sheet 044-02. Disponible en: <https://pubs.usgs.gov/fs/fs-044-02/pdf/fs044-02.pdf>
19. **UNESCO. (2018).** *Informe mundial de las Naciones Unidas sobre el desarrollo de los recursos hídricos 2018: soluciones basadas en la naturaleza para la gestión del agua, cifras y datos*. Disponible en: https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000261579_spa
20. **WWAP (Programa Mundial de las Naciones Unidas de Evaluación de los Recursos Hídricos)/ONU-Agua. 2018.** *Informe Mundial de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos 2018: Soluciones basadas en la naturaleza para la gestión del agua*. París, UNESCO. Disponible en: <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000261494>

Recibido: 22/03/2019.

Aprobado: 22/05/2019.

RECYT

Año 21 / N° 32 / 2019 / 87–91

Descripción morfológica de amebas testadas del género *Arcella* sp., a través del uso de técnicas multiples

Morphological description of testate amoeba of the genus *Arcella* sp., Through the use of multiple techniques

Karen Bracale^{1,*}, Roschman-González², Héctor Osorio-Vega¹

1- Laboratorio de Patología Celular y Molecular, Centro de Medicina Experimental, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Km 11 de la Carretera Panamericana, Altos de Pipe, Edo. Miranda – Venezuela.

2- Centro de Microscopía Electrónica “Dr. Mitsuo Ogura”, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela (UCV). Caracas – Venezuela.

* E-mail: karenbiostar@gmail.com

Resumen

En la investigación se describe morfológicamente amebas del género *Arcella* sp mediante el uso de técnicas de cultivo, microscopía electrónica de barrido (MEB), y morfometría. Para ello, se tomó una muestra de 5µl de estos microorganismos en un medio de cultivo salino, estandarizado previamente. Al tratarse de una muestra acuosa, se realizó una estandarización del método utilizado para observación a través del MEB utilizando una modalidad de bajo vacío o fuerza ambiental. En este sentido, las muestras fueron fijada con 5µl de solución Karnovsky al 2% por 15 min y post-fijada con 5µl de solución de tetraóxido de osmio al 1% por 15 min. Posteriormente, se tomó una muestra de la mezcla, que se colocó en una rejilla de cobre cubierta previamente con una película de nitrocelulosa y una película de carbono para mayor resistencia mecánica de la rejilla, la cual se dejó secar en una estufa a temperatura ambiente por 20 min, una vez colocada la muestra. Finalmente, se observó en un microscopio electrónico de barrido en modalidad de bajo vacío (ESEM) y a partir de las imágenes digitalizadas, se obtuvieron las dimensiones de las características diagnósticas de interés, con la ayuda del programa ImageTool 3.0. Los resultados obtenidos de este estudio permitieron describir de forma general las características diagnósticas de un grupo de amebas testadas pertenecientes al género *Arcella* sp.

Palabras clave: Amebas; *Arcella* sp; Morfología; Cultivos; Microscopía electrónica de barrido.

Abstract

In the research morphologically, amoebas of the genus *Arcella* sp are described by the use of culture techniques, scanning electron microscopy (SEM), and morphometry. For this, a sample of 5µl of these microorganisms was taken in a saline culture medium, previously standardized. Being an aqueous sample, a standardization of the method used for observation through the MEB using a low vacuum mode or environmental force. In this regard, the samples were fixed with 5µl of Karnovsky solution at 2% for 15 min and post-fixed with 5µl of 1% osmium tetroxide solution for 15 min. Subsequently, a sample of the mixture was taken, which was placed in a copper grid previously covered with a nitrocellulose film and coated with a carbon film for greater mechanical strength and allowed to dry in an oven at room temperature for 20 min, once the sample was placed. Finally, it was observed in a scanning electron microscope in low vacuum mode (ESEM) and from the digitized images, the dimensions of the diagnostic characteristics of interest were obtained, with the help of the ImageTool 3.0 program. The results obtained from this study allowed to describe in a general way the diagnostic characteristics of a group of tested amoebas belonging to the genus *Arcella* sp.

Keywords: Amoebas; *Arcella* sp; Morphology; Cultures; Scanning electron microscopy.

Introducción

Las amebas son un grupo amplio y heterogéneo de micro eucariotas que se desplazan a través de proyecciones citoplasmáticas o pseudópodos [1]. Las mismas habitan en suelos húmedos o ambientes acuáticos, desempeñando un

papel protagónico en el mantenimiento del flujo de energía y el ciclaje de nutrientes de estos sistemas [2]. Dentro de este grupo, se encuentran las amebas testadas, las cuales presentan una teca calcárea que recubre la célula desnuda. Estas pueden ser encontradas en hábitats acuáticos como lagos, lagunas, ríos, cenotes y aguas subterráneas [3], [4], [5], [6].

A nivel morfológico, estas amebas presentan varias características que pueden ser diagnósticas en la identificación de este grupo de microorganismos: la teca rígida, que recubre la membrana de la célula y puede estar constituida por elementos de diversa naturaleza; el pseudostoma, el cual es una abertura en la región oral de la teca a través de la cual la ameba interactúa con el medio circundante [7], entre otras características diagnósticas. Estas características son determinantes en la identificación de estos microorganismos y las mismas pueden variar en forma y tamaño, lo que favorece la gran diversidad y heterogeneidad de especies presentes en estos grupos de micro eucariontes [8].

Ahora bien, desde hace ya varias décadas el estudio de estos micro eucariotas de vida libre en sistemas naturales ha tomado auge, ya que se le considera un importante componente de la biota que mantiene los canales de regulación de los sistemas naturales, como la transformación y descomposición de la energía, el mantenimiento de sistemas ecológicos y como bioindicadores de procesos de contaminación de sistemas acuáticos [9], siendo incluso utilizados cotidianamente en actividades de la vida diaria de los humanos, lo que los convierte en un importante grupo de estudio [10].

Sin embargo, la investigación y caracterización de estos microorganismos requiere redimensionar el uso de micro técnicas en función de los problemas técnicos y complicaciones que se producen en este tipo de investigaciones [11]. En este sentido, la aplicación de técnicas y métodos que faciliten el estudio de estos microorganismos de forma eficiente, se hace cada vez más relevante [12]. Por tal motivo, a través de esta investigación, se pretende lograr describir morfológicamente amebas testadas del género *Arcella sp.*, a partir del uso de múltiples técnicas que se espera que faciliten y redimensionen su estudio.

Materiales y Métodos

El estudio de microeucariotas de vida libre requiere un abordaje multidisciplinario, ya que la observación de los mismos en ambientes acuáticos o sistemas astáticos naturales (entendiendo estos últimos como pequeños sistemas de agua estancadas que permiten el crecimiento de microbiota asociada a ellos, como por ejemplo heliconias, bromelias, etc), a través de un microscopio óptico, muchas veces no llegan a ser suficientes para una buena descripción, identificación y posterior caracterización del sistema. En este sentido, se aplicaron diferentes técnicas, tales como medios de cultivos, microscopía y morfometría, las cuales permitieron el estudio de estos microorganismos de forma eficiente.

Medio de cultivo: Para observar las características morfológicas de estos microorganismos, fue necesario cultivarlos en condiciones de laboratorio. Para ello, se

tomó una muestra de 5ml de agua proveniente de sistemas astáticos, la cual fue sembrada en un medio de cultivo salino previamente estandarizado a pH 7 y temperatura cercana al ambiente (20° C - 26° C).

Posteriormente, se monitoreó la abundancia de microorganismos colectando 5 µl/medio y observándolo por técnicas de microscopía, dos veces por semana, durante un periodo de 4 semanas. Estos datos de abundancia, fueron reportados en concentración (organismos/ml).

Técnicas de Microscopía: Una vez alcanzado el punto de mayor abundancia total de microeucariotas de vida libre en los medios de cultivos utilizados (el cual fue de 3415 organismos/ml, de los cuales 1126 organismos/ml correspondían al grupo de los ameboides), se procedió a realizar su observación a través de técnicas de microscopía, las cuales permitieron la descripción y posteriormente la identificación de estos microorganismos. Para esto, se siguió la metodología planteada previamente por Bracalé *et al.* [13].

Microscopía óptica: Para la observación de microorganismos por microscopía óptica (MO), se tomó una muestra de 5µl de medio, los cuales fueron colocados en un portamuestra de vidrio y observados de forma directa al microscopio óptico (marca Motic – BA310 Series), realizando el conteo de organismos vivos por campo observado, realizando un barrido total de 100 campos por muestra. Finalmente, se realizó un registro fotográfico con la cámara principal de un Huawei Ascend Y200 de 3.1 megapíxeles.

Microscopía Electrónica de Barrido: Para la observación de microorganismos de una muestra acuosa por microscopía electrónica de barrido (MEB), se realizó una estandarización del método convencional, utilizando una modalidad de barrido de bajo vacío o fuerza ambiental (ESEM), para la cual, se tomó una muestra de 5µl del medio de cultivo, la cual fue fijada con 5µl de glutaraldehído al 2% por 15 min y postfijada con 5µl de tetraóxido de osmio al 1% por 15 min. Una vez fijada y post-fijada la muestra, se tomaron 5µl de la mezcla y se colocaron en una rejilla de cobre cubierta previamente con una película de nitrocelulosa (colodión) y una película de carbono. Posteriormente, se colocaron las rejillas en una estufa a temperatura ambiente (25-30° C) por 20 min para que la muestra se seque y posteriormente colocarla en el microscopio electrónico.

Finalmente, la muestra fue observada en un Microscopio electrónico de barrido (MEB), marca FEI Quanta 250 FEG, en modo de observación de vacío bajo y se realizó el registro fotográfico de las muestras.

Análisis Morfométrico: A partir de las imágenes digitalizadas obtenidas previamente con ayuda de la técnica de microscopía electrónica de barrido (MEB), se obtuvieron las dimensiones de las características diagnósticas de interés de estos microorganismos, como lo son el ancho y el largo de la circunferencia de la célula y el ancho y largo de la circunferencia del pseudostoma. La toma de medidas

fue realizada a través del programa ImageTool 3.0, con un posterior análisis de los datos a través de un paquete estadístico convencional.

Resultados y Discusión

Fueron descritos dos grupos de amebas testadas, de las cuales se plantea una posible identificación hasta el nivel de género con ayuda de microscopía óptica, microscopía electrónica de barrido y el uso de material bibliográfico pertinente [8], [14], [15].

El género descrito en este estudio fue *Arcella* sp., el cual es un grupo que presenta una teca circular que bordea al pseudostoma ubicado en la región oral (Figura 1), además de las características diagnósticas de cada grupo. Para el caso particular de las amebas de este estudio, las tecas observadas fueron de forma circular. No obstante, se pueden encontrar múltiples formas de teca: cilíndricas, ovales, con forma de estrella, circulares, entre otras, las cuales son características de cada grupo.

Con ayuda de la microscopía óptica, se cuantificó una abundancia promedio de $84^{(+3)}$ organismos/ml a las cuatro (4) semanas de experimentación, cuando se reportaron los mayores valores de abundancia de la cinética de crecimiento.

En lo referente a la morfometría, se obtuvo un diámetro celular promedio de $59,07 \pm 0,88 \mu\text{m}$. Del mismo modo, se obtuvo el diámetro promedio del pseudostoma de $20,70 \pm 0,58 \mu\text{m}$ y, finalmente, se reportaron medidas de la membrana en la depresión del pseudostoma en la que se observó una red de celdas en formas regulares y geométricas, las cuales están conformadas por hexágonos o pentágonos, con una dimensión de lado promedio de $640 \pm 40 \text{ nm}$.

Técnicas de Microscopía

Las amebas testadas del género *Arcella* sp. fueron observadas a través de la técnica de microscopía óptica convencional y por medio de ésta, se pudo describir su morfología básica e identificar algunas estructuras que son diagnósticas en la identificación de estos microeucariotas, como lo es su forma (Figura 1.A), la abertura del pseudostoma, la cual consiste en una abertura o boca circular ubicada en la región oral de la célula, la cual le permite a la ameba interactuar con su medio externo [7], así como la presencia de dos núcleos, como se aprecia en la Figura 1.B.

De igual forma, se apreciaron detalles de la teca, la cual por lo general, está compuesta de material secretado por el mismo microeucariota. Sin embargo, puede presentar sílice, granos de polen, hifas de hongos y otros detritus orgánicos presentes en el medio [16].

Para lograr una descripción y caracterización más eficiente, se incluye el uso de técnicas de microscopía

de mayor poder de resolución como lo es la microscopía electrónica.

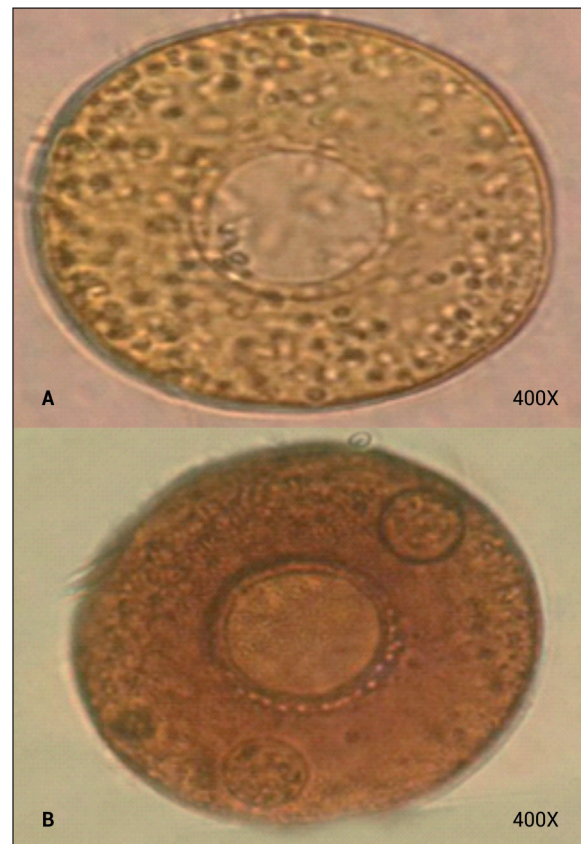


Figura 1: Fotografías de microscopía óptica de amebas testadas pertenecientes al género *Arcella* sp. A. Ameba testada, que presenta su abertura del pseudostoma. Se observan múltiples puntos en el interior de la célula, los cuales pueden corresponder con células bacterianas ingeridas por la ameba como alimento. B. Fotografías de microscopía óptica de una ameba testada, la cual presenta su pseudostoma en la región oral, así como dos núcleos que se ubican hacia extremos opuestos de la célula dentro de su citoplasma.

En este sentido, el microscopio electrónico de barrido (MEB) proporciona una profundidad de enfoque notable confiriéndole a las imágenes del microscopio de barrido su calidad tridimensional [17], lo cual es ideal para los estudios de morfo-funcionalidad e identificación de microorganismos presentes en micro comunidades, como las de este estudio.

En este sentido, la observación de estas amebas testadas por medio de técnicas de microscopía electrónica de barrido de bajo vacío, permitió profundizar en detalle aspectos de la morfología de estos microeucariotas, como la teca (Figuras 2 y 3), la abertura del pseudostoma (Figura 2.B y 3.A), los poros que la bordean y una red de celdas que recubre el interior del pseudostoma (Figura 3.A y 3.B).

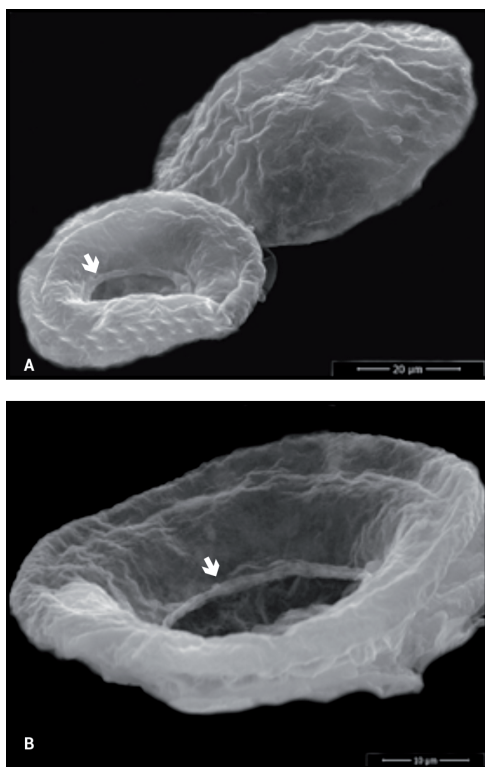


Figura 2: Micrografías de microscopía electrónica de amebas testadas del género *Arcella* sp. **A.** Vista frontal y posterior de dos amebas. En la cara frontal se aprecia la depresión del pseudostoma (flecha), mientras que en la cara posterior se aprecia la membrana del ectoplasma. **B.** Vista lateral de una ameba del género *Arcella*, en la que se aprecia la depresión del pseudostoma (flecha). En la actualidad, pocos son los estudios que abordan la descripción, caracterización e identificación de este tipo de microorganismos en estos sistemas naturales.

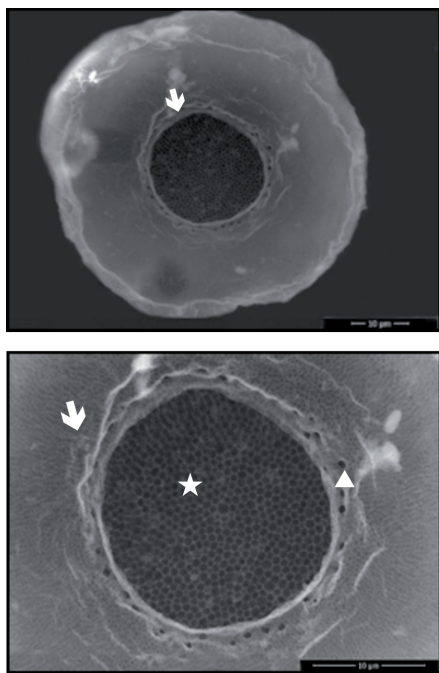


Figura 3: Micrografías de microscopía electrónica amebas testadas del género *Arcella* sp. **A.** Vista superior de un individuo del género *Arcella* en el que se aprecia la depresión del pseudostoma. (Flecha) y la teca redonda que recubre a la célula. **B.** Acercamiento de la zona oral que bordea al pseudostoma (flecha). De igual manera, se observa una red de celdas (estrella) que recubre el pseudostoma y los poros (punta de flecha) que se encuentran alrededor de la membrana de la abertura oral.

Es por esto que existe la necesidad de seguir ampliando los conocimientos en torno a estos microorganismos, ya que son grupos multidiversos y de elevada importancia para los ambientes bentónicos por su papel en los flujos de energías, las tramas tróficas y la conservación de estos sistemas [2]. De igual manera, pueden ser utilizados como bioindicadores de contaminación ambiental.

Finalmente, es importante destacar que a partir de los resultados obtenidos en este estudio, por medio del uso de las técnicas de microscopía electrónica, y el uso de medidas morfométricas, las cuales fueron comparadas con referencia bibliográfica sobre el tema. Con base a los resultados obtenidos y a las referencias consultadas, los ejemplares estudiados pudieran corresponder con *Arcella* discoideas, sin embargo, se recomienda complementar este estudio con el uso de técnicas moleculares que permitan corroborar la identidad taxonómica de estas amebas.

Conclusiones

La observación de muestras biológicas acuosas a través del microscopio electrónico en modalidad de bajo vacío y con la estandarización realizada a los métodos convencionales, resultó ser útil en la observación de estos microorganismos. No obstante, se recomiendan ensayos posteriores que permitan mejorar la calidad de observación de las mismas.

El estudio de la estructura y morfología de una comunidad de micro eucariotas de vida libre de un sistema natural se ve favorecido gracias al uso de múltiples técnicas que permitan abordar los problemas que puedan surgir del estudio de estos microorganismos, como los medios de cultivo y las técnicas de microscopía.

El nivel de resolución aportado por la técnica de microscopía electrónica en la identificación de características morfo-funcionales (diagnósticas), permitió describir morfológicamente amebas testadas, que partiendo de los resultados obtenidos y la comparación bibliográfica realizada, se sugiere la clasificación de *Arcella* sp para los microorganismos observados en este estudio. Sin embargo, se recomienda profundizar con métodos moleculares que permitan constatar la veracidad de estos resultados.

Agradecimientos

Centro de Microscopía Electrónica Dr. "Mitsuo Ogura" de la Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela.

Dr. Ernesto González Profesor Titular de la Facultad de Ciencias de la UCV y director del Instituto de Biología Experimental (IBE).

Bibliografía

1. Adl, S., Simpson, A., Lane, C., Lukes, J., Bass, D., Bowser, S., Brown, M., Burki, F., Dunthorn, M., Hampl, V., Heiss, A., Hoppenrath, M., Lara, E., Gall, L., Lynn, D., Mcmanus, H., Mitchell, E., Mozley-Stanridge, S., Parfrey, L., Pawlowski, J., Rueckert, S., Shadwick, L., Schoch, C., Smirnov, A., Spieget, F. 2012. *The Revised Classification of Eukaryotes*. J. Eukaryot Microbiol. 59(5): 429-493.
2. Neville, L. A., Christie, D. G., McCarthy, F. M. G., & MacKinnon, M. D. 2010. *Biogeographic variation in Thecamoebian (Testate amoeba) assemblages in lakes within various vegetation zones of Alberta, Canada*. International Journal of Biodiversity and Conservation, 2, 215-224.
3. Medioli, F. S., & Scott, D. B. 1988. *Lacustrine thecamoebians (mainly arcellaceans) as potential tools for palaeolimnological interpretations*. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, 62, 361-386.
4. Patterson, R. T., & Kumar, A. 2002. *A review of current testate rhizopod (thecamoebian) research in Canada*. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, 180, 225-251.
5. Escobar, J., Martínez, J. I., & Parra, L. N. 2005. *Thecamoebians (Testaceous rhizopods) from a tropical lake: La Fe Reservoir, Antioquia, Colombia*. Caldasia, 27, 293-298.
6. Van Hengstum, P. J., Reinhardt, E. G., Beddows, P. A., Huang, R. J., & Gabriel, J. J. 2008. *Thecamoebians (Testate amoebae) and foraminifera from three anchialine cenotes in Mexico: low salinity (1.5- 4.5 psu) faunal transitions*. Journal of Foraminiferal Research, 38, 305-317.
7. Blanco, M. 2003. *Aspectos reproductivos y variaciones intraespecíficas de amebas testáceas subtropicales y pampásicas*. Universidad de La Plata. Buenos Aires – Argentina. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10915/4579>.
8. Sigala, I., Lozano, S., Escobar, J., Pérez, L., Gallegos, E. 2015. *Testate Amoebae (Amebozoa: Arcellinida) in Tropical Lakes of Central Mexico*. Rev. Biol. Trop. 64 (1): 393-413.
9. Scorza, J. 1997. *Introducción al conocimiento microscópico de ambientes astáticos*. Centro “José W Torrealba”. Núcleo Universitario “Rafael Rangel” Trujillo – Venezuela.
10. Vaerewijck, M., y Houf, K. 2015. *El papel de los protozoarios de vida libre transmitidos como patógenos en alimentos*. Elsevier Ltd. Universidad de Gante. Bélgica.
11. Laybourn-Parry, J. 1984. *A functional Biology of Free-Living Protozoa*. Berkeley and Los Angeles, California. University of California.
12. Ramírez, A., Chiou, W., Faber, K. 2000. *Estudio Comparativo de Técnicas de Preparación de Muestras para Microscopía Electrónica de Transmisión de Recubrimientos Cerámicos Proyectados por Plasma*. Bol. Soc. Esp. Cerám. Vidrio, 39(6): 735-740.
13. Bracale, K., Errico, L., y González, R. 2016. *Microscopía Electrónica de Barrido de Presión Variable en la Identificación de Amebas Testadas del Genero Arcella sp.* Acta Microscopica, Vol. 25 Supp. B., (2016). Presentado en el XVII Congreso Venezolano de Microscopía y Microanálisis (CONVEMI 2016). Caracas – Venezuela.
14. Larh, D. 2006. *Taxonomía dos Arcellinida Kent, 1880 (Protista: ramicristates) do Parque Ecologico do Rio Tiete*. Tesis de grado (Maestría). Instituto de Biociencias da Universidad de Sao Paulo. Departamento de Zoología. Sau Paulo - Brasil.
15. Junio, L., Fonseca, A., Mucio, G., Machado, L., Lansac-Toha, F. 2005. *Composição de amebas testáceas (Protozoa-Rhizopoda) de dois córregos do Estado de São Paulo, incluindo novos registros para o Brasil*. Acta Sci. Biol. Maringá, 27(2): 113-118.
16. Charman, D.J., Hendon, D., Woodland, W. 2000. *La identificación de tecomebas (Protozoa: Rhizopoda) en turbas*. Guía Técnica de la Asociación de Investigación del Cuaternario. Asociación de Investigación del Cuaternario. Londres – Inglaterra.
17. Karp, G. 2009. *Biología Celular y Molecular*. Conceptos y Experimentos. McGraw-HILL Interamericana. 5ta edición.

Recibido: 25/10/2018.

Aprobado: 20/05/2019.

RECYT

Año 21 / N° 32 / 2019 / 91–98

Efectos de pH, temperatura y tiempo de incubación sobre el crecimiento fúngico y la actividad lacasa en *Trametes villosa* BAFC 2755

Effects of pH, temperature and incubation time on fungal growth and laccase activity in *Trametes villosa* BAFC 2755

Mónica L. Barchuk^{1,*}, María I. Fonseca¹, Ernesto M. Giorgio¹, Pedro D. Zapata

1- Laboratorio de Biotecnología Molecular, Instituto de Biotecnología Misiones "María Ebe Reca",

Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, UNaM. Posadas, Argentina.

* E-mail: lucre_barchuk@hotmail.com

Resumen

Los hongos de pudrición blanca, como *Trametes villosa* BAFC 2755, son los únicos organismos capaces de degradar eficientemente la lignina debido a que poseen un sistema enzimático oxidativo. Una de las enzimas más importantes en este proceso es la lacasa. Esta es una fenoloxidasas, que posee aplicaciones en varios procesos biotecnológicos incluyendo la deslignificación de la pulpa de papel, detoxificación de químicos recalcitrantes, degradación de compuestos policíclicos aromáticos, biorremediación de suelos y aguas contaminadas. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto del pH, la temperatura y el tiempo de incubación sobre el crecimiento y el potencial oxidativo de *T. villosa* BAFC 2755. Para ello se llevaron a cabo ensayos en medio de cultivo ME y se determinó la actividad lacasa. Para complementar el análisis se caracterizó una región del gen que codifica para una lacasa. Los resultados obtenidos mostraron que las condiciones que mejoraron la producción de biomasa no fueron las que soportaron la mayor actividad lacasa. Los máximos niveles de actividad se registraron a 25° C al día 14 para pH 5,5 siendo de 200 U/L. El perfil de isoenzimas de lacasa fue afectado por el pH, la temperatura y el tiempo de cultivo, encontrándose tres isoenzimas de 64 kDa, 123 kDa y 132 kDa. Además, se obtuvo una secuencia nucleotídica de 779 pb de un gen que codifica para lacasa, cuya secuencia proteica mostró identidad de 90% con secuencias pertenecientes al gen *lacasa* de otras especies de *Trametes* sp.

Palabras clave: *Trametes* Lacasa, Isoenzimas. Biomasa fúngica.

Abstract

White rot fungi, such as *Trametes villosa* BAFC 2755, are the only organisms capable of efficiently degrading lignin due to their oxidative enzymatic system. One of the most important enzymes in this process is laccase. This is a phenol oxidase, which has applications in several biotechnological processes including pulp delignification, detoxification of recalcitrant chemicals, degradation of polycyclic aromatic compounds, bioremediation of contaminated soils and waters. The objective of this work was to evaluate the effect of pH, temperature and incubation time on the growth and oxidative potential of *T. villosa* BAFC 2755, for that were carried out a quantitative of tests in culture medium ME and activity in lacasa were determinated, to complete the analysis a gene fragment of this enzyme were characterize. The results obtained showed that the conditions that improved biomass production were not those that supported the greatest activity laccase. Maximum activity levels (200 U/L), were recorded after 14 days, at pH 5.5 and 25° C. Laccase's isoenzyme profile was affected by pH, temperature and culture time, with three isoenzymes of 64 kDa, 123 kDa and 132 kDa. In addition, a nucleotide sequence of 779 bp was obtained from a gene coding for laccase, whose protein sequence showed 90% identity with sequences belonging to the laccase gene of other species of *Trametes* sp.

Keywords: enzymatic activity, fungal biomass, white rot fungus, isoenzymes.

Introducción

Entre los microorganismos que degradan eficientemente la lignina se encuentran los hongos de pudrición blanca,

que bajo condiciones naturales colonizan fustes vivos o muertos (Eriksson *et al.*, 1990). El crecimiento y la fisiología de los hongos ligninolíticos depende de su capacidad intrínseca de crecimiento y de degradación de la lignina,

para lo que es necesario un eficiente sistema enzimático (Fonseca *et al.* 2014). Las principales enzimas ligninolíticas son oxidasas (lacasa, E.C 1.10.3.2) y peroxidasas como lignino peroxidasa (EC 1.11.1.14) y manganeso peroxidasa (EC 1.11.1.13).

Las lacasas pertenecen a la familia de las multicobre oxidasas, que usualmente contienen varios átomos de cobre en su centro catalítico (Thurston, 1994). Debido a la baja especificidad de sustrato, las lacasas pueden tener varias aplicaciones biotecnológicas incluyendo la deslignificación de la pulpa, detoxificación de químicos recalcitrantes, degradación de compuestos policíclicos aromáticos, biorremediación de suelos y de aguas contaminadas (Mayer y Staples, 2002). Una alternativa para superar esta dificultad es aislar microorganismos con alto potencial biotecnológico y optimizar las condiciones de cultivo tanto para el desarrollo micelial como para la producción y secreción de lacasas (Narashima *et al.*, 2005). Asimismo, la caracterización de la estructura génica y la identificación de las secuencias reguladoras y catalíticas permiten incursionar en otras formas de incrementar la producción de lacasa a través de la expresión homóloga y/o heteróloga de la misma (Fonseca *et al.*, 2018).

En objetivo del presente trabajo fue analizar el efecto del pH, la temperatura y el tiempo de incubación sobre el crecimiento y el potencial oxidativo de *T. villosa* BAFC 2755 mediante ensayos cuantitativos de actividad lacasa en medio líquido y caracterizar un fragmento génico de esta enzima.

Materiales y Métodos

Material biológico

En este estudio se utilizó el hongo de pudrición blanca *T. villosa* BAFC 2755 autóctono de la Provincia de Misiones, proveniente del cepario del Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires.

Para el proceso de clonación molecular se utilizó la cepa de *Escherichia coli* DH5a.

Efectos del pH, temperatura y día de cultivo sobre la biomasa fúngica y la actividad lacasa producida

Para la preparación de tacos fúngicos se utilizaron cultivos primarios en medio de cultivo extracto de malta-agar (MEA) conteniendo 12,7 g/L de extracto de malta y 20 g/L de agar en placas de Petri de 90 mm de diámetro, las cuales se inocularon por punción con ansa aguja en el centro de la placa y los cultivos se incubaron durante 5 días a 29° C en estufa. Posteriormente los tacos de agar con micelio se extrajeron a partir de los márgenes de la colonia

en crecimiento con la ayuda de un sacabocados de metal, de 0,5 cm de diámetro. Los tacos obtenidos se utilizaron para la inoculación de los medios de cultivo líquidos.

Los ensayos en medio de cultivo líquido para el estudio del efecto de pH, temperatura y días de cultivo sobre la producción de biomasa fúngica y la actividad lacasa producida se llevaron a cabo en erlenmeyers de 250 mL. A los cuales se les adicionó 50 mL de medio compuesto por 12,7 g/L de extracto de malta, 5 mL/L de concentrado soluble de maíz (ME). El medio de cultivo se ajustó a pH 3,5; 4,5 y 5,5 con 0,1 N de HCl y 0,1 N de NaOH. Estos medios se incubaron a 25, 29 y 33° C en estufa en condiciones estáticas colectando muestras a los 7, 10 y 14 días.

Determinación de biomasa fúngica

Para determinar la biomasa fúngica, se llevaron a cabo muestras destructivas, para ello el micelio se separó utilizando filtros de papel con fibra de vidrio (GF/C) y se secó a 80° C/24 h.

Determinación de actividad lacasa producida

La determinación de actividad lacasa se realizó empleando la técnica descrita por Field *et al.* (1993) con 2,6-dimetoxifenol (DMP) 5 mM como sustrato en *buffer* acetato de sodio 0,1 mM (pH 3,6). La absorbancia se cuantificó a 469 nm ($E_{469} = 27,5 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) en un espectrofotómetro Shimadzu UV-3600. La actividad enzimática se expresó en unidades enzimáticas (U), donde 1 U es equivalente a 1 $\mu\text{M}/\text{min}$ de producto a 30° C.

Electroforesis en gel de poliacrilamida

La presencia de isoenzimas se determinó mediante electroforesis no desnaturalizante en geles de poliacrilamida al 7,5% p/v (ND-PAGE; Laemmli, 1979; Murugesan *et al.*, 2007; Fonseca *et al.*, 2010). Se sembraron 20 μg de proteínas totales por carril (cuantificadas por el método de Bradford). La corrida electroforética se realizó a 100 V por 120 min en *buffer* Tris-Glicina 1,5 M, pH 8,3. Los geles se fijaron en una solución conteniendo 40% v/v de metanol, 10% v/v de ácido acético y se revelaron con una solución de DMP 5 mM en *buffer* acetato de sodio 0,1 M (pH 3,6) durante 10 min para detectar la actividad lacasa (Murugesan *et al.*, 2007; Fonseca *et al.*, 2010).

El peso molecular se determinó mediante electroforesis desnaturalizante (SDS-PAGE) utilizando un patrón de masa molecular preteñido (*Prestained Kaleidoscope* SDS-PAGE *standard broad range* de BioRad; Laemmli, 1979; Murugesan *et al.*, 2007; Fonseca *et al.*, 2010). Se sembraron 20 μg de proteínas totales por carril. La corrida electroforética se realizó a 100 V por 120 min en *buffer* Tris-Glicina 1,5 M, pH 8,3. Para la detección de las bandas el gel se trató previamente con una solución de acetato de sodio 50 mM

y Tritón X-100 0,2% v/v durante 30 min para eliminar el SDS y permitir el replegamiento del dominio catalítico. Luego se reveló con DMP 5 mM en *buffer* acetato de sodio pH 3,6 durante 10 min (Murugesan *et al.*, 2007; Fonseca *et al.*, 2010).

Análisis estadístico

El análisis de la varianza (ANOVA) seguido por el test de Bonferroni se realizó utilizando *GraphPad Prism* versión 4.0 para Windows (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

Aislamiento de ADN genómico

La extracción de ADN se realizó a partir de micelio crecido en medio líquido ME durante 5 días siguiendo el protocolo propuesto por Fonseca *et al.*, 2015.

Amplificación y purificación de un fragmento del gen *lacasa*

Para la amplificación de la región del gen que codifica para *lacasa* se utilizaron cebadores que hibridan en la región de unión al cobre II: 5'-ACNTTTTGGTAYCA-YAGYCA-3' (Fonseca *et al.*, 2018) y región de unión al cobre IV: 5'-TGRAARTCDATRTGRCARTG-3' (Hoshida *et al.*, 2001). La reacción de amplificación se realizó en un volumen final de 20 μ L, conteniendo 2,5 mM de Cl_2Mg , 200 μ M dNTP's, 10 pmol de cada cebador, 1 U de *Pfu* polimerasa y 30 ng de ADN templado. El ciclado consistió en una desnaturalización a 94° C por 3 min, 35 ciclos de 94° C por 40 s, 50° C por 40 s y 72° C por 40 s y una elongación final a 72° C por 10 min.

La banda de interés fue recortada a partir del gel de agarosa y purificada con el kit *Wizard SV gel and PCR Clean-Up System* (Promega) siguiendo las instrucciones del proveedor.

Clonación y secuenciación del fragmento del gen *lacasa* amplificado

Las células *E. coli* DH5 α se hicieron competentes con el método de CaCl_2 (Sambrook, 1989). Los fragmentos de interés con extremos romos se procesaron para contener la *A-tailing* y se ligaron con el vector pGEM-T Easy (Promega) siguiendo las instrucciones del proveedor. Diez colonias con el inserto se seleccionaron, los plásmidos se purificaron por lisis alcalina (Sambrook, 1989) y se secuenciaron (Macrogen-Corea y ArgenINTA).

Análisis bioinformático

El análisis *in silico* de los resultados de la secuenciación se llevó a cabo mediante distintas herramientas bioinfor-

máticas. En primer lugar, todas las secuencias fueron contrastadas con las bases de datos del NCBI mediante Blastn (www.ncbi.nlm.nih.gov/Blast). Los tres posibles marcos de lecturas se obtuvieron con EXPASY TRASLATE (www.expasy.org) determinándose el correcto con Blastp. Para detectar los posibles sitios de glicosilación se empleó la herramienta disponible en <http://www.cbs.dtu.dk/services/NetNGlyc-1.0/output.php>.

Resultados

Efecto del pH, temperatura y tiempo de incubación sobre el crecimiento fúngico, la actividad enzimática y el perfil isoenzimático de lacasas producidas

A 25° C la mayor biomasa fúngica ($0,161 \pm 0,018$ g) se observó a pH 4,5 a los 14 días de incubación. A 29° C el máximo crecimiento se observó ($0,313 \pm 0,008$ g) a pH 5,5 a los 7 días de incubación. Por otro lado, a 33° C los niveles promedios de biomasa máximos ($0,076 \pm 0,003$ g) se observaron a pH 4,5 y 5,5 a los 10 días de incubación (Figura 1). Respecto a la actividad enzimática los máximos niveles se observaron a 25° C, pH 5,5 a los 14 días (≈ 200 U/L); a 29° C, pH 3,5 a los 10 días (≈ 100 U/L); y a 33° C, pH 3,5 a los 14 días de incubación (≈ 150 U/L; $p < 0,05$, Figura 1).

El análisis de correlación mostró una asociación positiva a 25° C para pH 3,5 y 4,5 entre la biomasa y la actividad enzimática ($r=0,99$). A 33° C se observó correlación positiva a pH 3,5 con un aumento de biomasa asociado al aumento de actividad enzimática ($r=0,88$).

En tanto que, a 29° C no se observó correlación en ninguno de los pH analizados.

Respecto al perfil isoenzimático, se observaron 2 isoenzimas a 25 y 33° C cuya presencia varió con el pH y los días de cultivo. A 29° C predominó la fracción enzimática de mayor movilidad, mientras que en condiciones de pH 4,5 a 14 días de incubación se observó una banda de menor movilidad (Figura 1).

Para establecer una relación entre las variables se realizó un análisis de correlación (Tabla 1). Los resultados mostraron que el pH, la biomasa y la actividad enzimática dependieron del tiempo y temperatura de incubación.

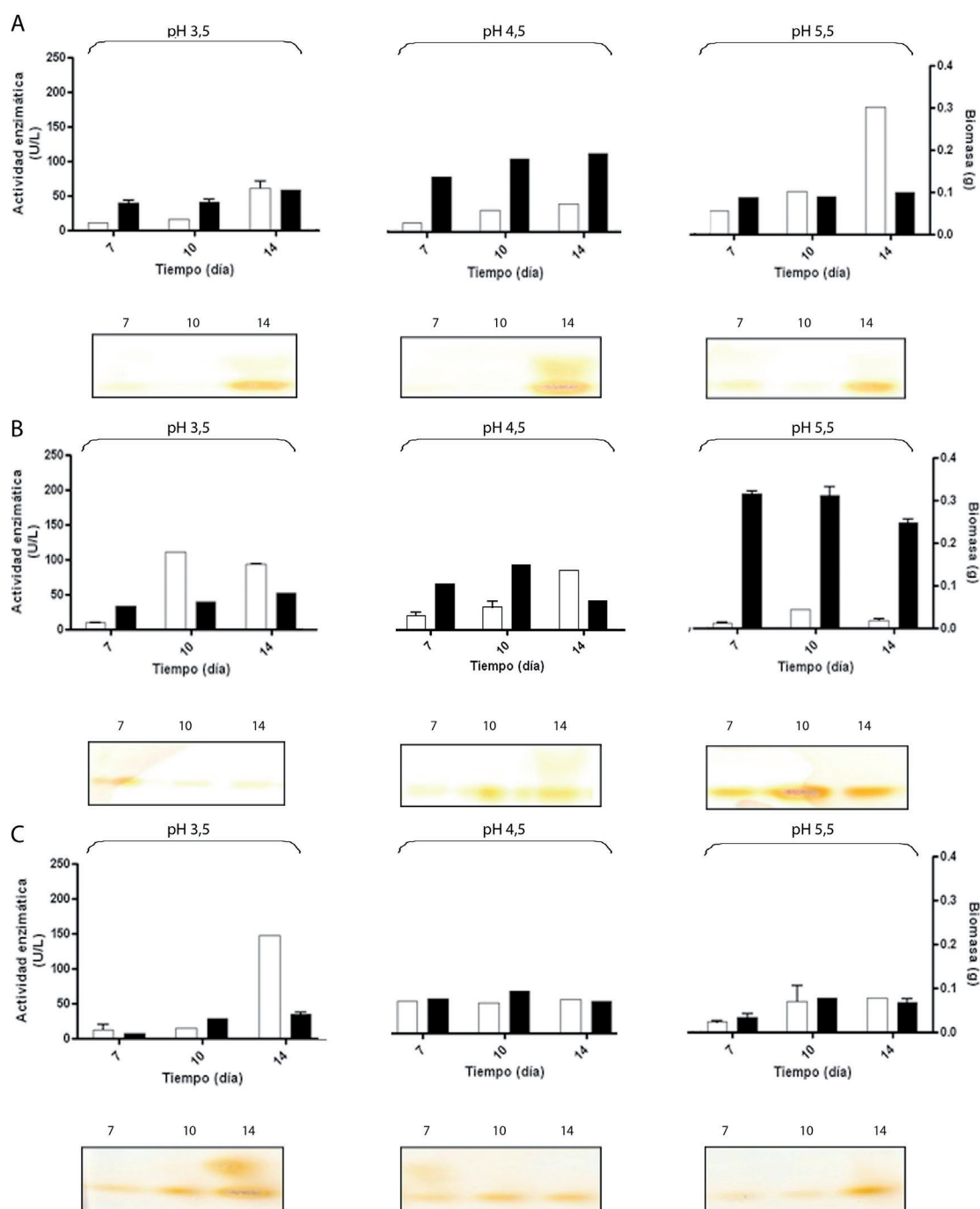


Figura 1: Efecto del pH, la temperatura y días de incubación sobre la producción de biomasa (■) y la actividad lacasa (□) de *T. villosa* BAFC 2755 a 25° C (A), 29° C (B), 33° C (C). Debajo de cada gráfico se muestran los respectivos zimogramas. Se sembraron 20 µg de proteínas/pocillo para cada condición evaluada, utilizando geles de poliacrilamida no desnaturalizantes (ND-PAGE) al 7,5% p/v los que se revelaron con DMP. Los datos son representativos de dos experimentos independientes. La biomasa correspondió al procesamiento de 50 mL de cultivo.

Tabla 1: Análisis de correlación entre las variables Biomasa, pH y AE, teniendo en cuenta la temperatura y los días de incubación.

T (° C)	t (días)	BIOMASA-pH		AE-pH		BIOMASA-AE	
		CC	p-valor	CC	p-valor	CC	p-valor
25	7	0,38	0,4572	0,88	0,0213*	-0,10	0,8457
	10	0,23	0,65	0,97	0,0014*	-0,01	0,9806
	14	0,06	0,90	0,78	0,0654	-0,57	0,2426
29	7	0,96	0,0028*	-0,15	0,7744	-0,41	0,4250
	10	0,99	0,0002*	-0,89	0,0147*	-0,84	0,0363*
	14	0,84	0,0380*	-0,87	0,0252*	-0,99	0,0001*
33	7	0,32	0,537	0,05	0,9285	0,91	0,0114*
	10	0,61	0,2012	0,64	0,1699	0,69	0,1268
	14	0,58	0,2252	-0,87	0,0231*	-0,83	0,0427*

Para estimar el peso molecular de las diferentes isoenzimas observadas en los experimentos anteriores, se procedió a su separación electroforética mediante SDS-PAGE y posterior renaturalización y detección según técnica descripta previamente (Figura 2). Se detectaron tres isoenzimas, de 64 kDa, 123 kDa y 132 kDa.

correlación entre el crecimiento y la actividad lacasa producida (Gochev & Krastanov, 2007). Por otro lado, a 33° C pH 4,5 y 5,5, las condiciones no favorecieron el crecimiento ni la secreción enzimática. Esto podría deberse a la falta de adaptación del hongo en estas condiciones con la consecuente disminución de la actividad lacasa producida.

Varios reportes demuestran que algunas especies de *Trametes* sp. son buenas productoras de lacasa (Nyanhongo *et al.*, 2002; Rancaño *et al.*, 2003; Baldrian, 2004), mientras que otros trabajos ponen en evidencia la incapacidad de ciertas especies de *Trametes* sp. para expresar niveles significativos de lacasa (Rajendran *et al.*, 2011). Estas diferencias en la capacidad de producción de lacasa pueden ser atribuidas a la variabilidad intra o interespecíficas (Quarantino *et al.*, 2008).

Con respecto al análisis de isoenzimas, muchos autores han reportado la existencia de isoenzimas de lacasas en varias especies de hongos de la pudrición blanca con masas moleculares de 60 kDa a 80 kDa (Salas *et al.*, 1995; Ko *et al.*, 2001; Dong & Zhang, 2004; García *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2006; García *et al.*, 2007; Lu *et al.*, 2007; Dantán-González *et al.*, 2008). Giardina *et al.*, (1999) concuerdan en que muchas especies de hongos producen más de una isoenzima lacasa según las condiciones de cultivo siendo estas importantes para la eficiente colonización del sustrato y que algunas están asociadas al crecimiento (Das *et al.*, 1997). En este trabajo se describe la presencia de tres nuevas isoenzimas para una cepa autóctona de la provincia de Misiones *T. villosa* BAFC 2755. Quedándose por analizar el papel que desempeña cada una de estas isoenzimas en el proceso de maduración de las hifas y en la capacidad adaptativa de esta cepa a distintos ambientes y condiciones.

Por último, las lacasas fúngicas poseen secuencias de unión al cobre altamente conservadas que posibilitan el diseño de cebadores degenerados, y con estos cebadores obtener secuencias génicas de diferentes basidiomicetes (D'Souza *et al.*, 1996). Basados en este conocimiento, un fragmento del gen de *T. villosa* BAFC 2755 fue clonado y secuenciado. Esta secuencia parcial permitirá, en trabajos posteriores, profundizar sobre la regulación de la expresión genética de la enzima lacasa codificada-secretada en *T. villosa* BAFC 2755.

Conclusiones

El efecto combinado del pH, la temperatura y el tiempo de incubación mostró una marcada influencia sobre el crecimiento y la actividad lacasa producida por *T. villosa* BAFC 2755. No fue posible establecer una relación clara entre los niveles de biomasa y la actividad enzimática en la mayoría de las condiciones evaluadas. Las condiciones que mejoraron la producción de biomasa no necesariamente fueron las que soportaron la mayor actividad enzimática

lacasa. El perfil isoenzimático de lacasa también se vio influenciado por el pH, la temperatura y el tiempo de incubación, describiéndose hasta tres isoenzimas para la cepa BAFC 2755 de *T. villosa*. La secuencia nucleotídica obtenida mostró un 90% de identidad con lacasas de otros basidiomicetes. Estos resultados sentarán las bases para futuras investigaciones de la proteína, como así también para su aplicación en diferentes procesos.

Bibliografía

1. Baldrian P. 2004. *Purification and characterization of laccase from the white-rot fungus Daedalea quercina and decolorization of synthetic dyes by the enzyme*. Applied Microbiology and Biotechnology, 63: 560-3.
2. Das N, Sengupta S, Mukherjee M. 1997. *Importance of laccase in vegetative growth of Pleurotus florida*. Applied and Environmental Microbiology, 63: 4120-4122.
3. Dantán-González E, Vite-Vallejo O, Martínez-Anaya C, Méndez-Sánchez M, González MC, Palomares LA, Folch-Mallol J. 2008. *Production of two novel laccase isoforms by a thermotolerant strain of Pycnoporus sanguineus isolated from an oil-polluted tropical habitat*. International Microbiology, 11: 163-9.
4. Dong JL & Zhang YZ. 2004. *Purification and characterization of two laccase isoenzymes from a ligninolytic fungus Trametes gallica*. Preparative Biochemistry & Biotechnology, 34:179-94.
5. Eggert C, Temp U, Eriksson E. 1996. *The ligninolytic system of the white rot fungus Pycnoporus cinnabarinus: purification and characterization of the laccase*. Applied and Environmental Microbiology, 62: 1151-1158.
6. Eriksson KE, Blanchette RA, Ander P. *Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag; 1990. 397 p.
7. Field JA, Jong ED, Costa GF, Bont JAM. 1992. *Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by new isolates of white rot fungi*. Applied and Environmental Microbiology, 58: 2219-2228.
8. Fonseca MI, Molina MA, Winnik DL, Busi MV, Fariña JI, Villalba LL, Zapata PD. 2018. *Isolation of a laccase-coding gene from the lignin-degrading fungus Phlebia brevispora BAFC 633 and heterologous expression in Pichia pastoris*. J Appl Microbiol. 124(6):1454-1468.
9. Fonseca MI., Fariña JI., Sadañoski MA., D'Errico Roger, Villalba LL., Zapata PD. *Decolorization of Kraft liquor effluents and biochemical characterization of laccases from Phlebia brevispora BAFC 633*. Internat Biotet Biodeg. 104 (2015) 443-451.
10. Fonseca MI, Fariña JI, Castrillo ML, Rodríguez D, Nuñez C, Villalba LL, Zapata PD. *Biopulping of wood chips with Phlebia brevispora BAFC 633 reduces lignin content and improves pulp quality*. Internat Biotet Biodeg 2014; 90:29-35.

11. Fonseca MI, Fariña JI, Sanabria NI, Villalba LL, Zapata PD. (2013). *Influence of culture conditions on laccase production, growth, and isoenzymes patterns in native white rot fungi from the Misiones rainforest (Argentina)*, *Bio-Resources*, 8, 2855-2866.
12. Fonseca MI, Shimizu E, Villalba LL, Zapata PD. (2010). *Laccase-producing ability and the inducing effect of Copper on laccase production of white rot fungi native from Misiones (Argentina)*. *Enzyme and Microbial Technology*, 46(6): 534-539.
13. Galhaup C, Goller S, Peterbauer CK, Strauss J, Haltrich D. 2002. *Characterization of the major laccase isoenzyme from Trametes pubescens and regulation of its synthesis by metal ions*. *Microbiology*, 148: 2159-2169.
14. Garcia TA, Santiago MF, Ulhoa CJ. 2006. *Properties of laccases produced by Pycnoporus sanguineus induced by 2,5-xylydine*. *Biotechnology Letters*, 28: 633-6.
15. Garcia TA, Santiago MF, Ulhoa CJ. 2007. *Studies on the Pycnoporus sanguineus CCT-4518 laccase purified by hydrophobic interaction chromatography*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 75: 311-8.
16. Giardina P, Palmieri G, Scaloni A, Fontanella B, Faraco V, Cennamo G, Sannia G. 1999. *Protein and gene structure of a blue laccase from Pleurotus ostreatus*. *Biochemical Journal*, 341: 635-663.
17. Gochev VK & Krastanov AI. 2007. *Fungal Laccases*. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 13: 75-83
18. Heinzkill M, Bech L, Halkier T, Schneider P, Anke T. 1998. *Characterization of laccases and peroxidases from wood-rotting fungi (family Coprinaceae)*. *Applied and Environmental Microbiology*, 64: 1601-1606.
19. Ko EM, Leem YE, Choi HT. 2001. *Purification and characterization of laccase isozymes from the white-rot basidiomycete Ganoderma lucidum*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57: 98-102.
20. Laemmli UK. 1970. *Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4*. *Nature* 227, 680-685.
21. Lu L, Zhao M, Zhang BB, Yu SY, Bian XJ, Wang W. 2007. *Purification and characterization of laccase from Pycnoporus sanguineus and decolorization of an anthraquinone dye by the enzyme*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 74: 1232-9.
22. Mayer AM & Staples RC. 2002. *Laccase: new functions for an old enzyme*. *Phytochemistry*, 60: 551-565.
23. Moreira MT, Feijoo G, Mester T, Mayorga P, Sierra-Alvarez R, Field, JA. 1998. *Role of organic acids in the manganese-independent biobleaching system of Bjerkandera sp. strain BOS55*. *Applied and Environmental Microbiology*, 64: 2409-2417.
24. Mouso N, Papinutti L, Forchiasin F. 2003. *Efecto combinado del cobre y pH inicial del medio de cultivo sobre la producción de lacasa y manganeso peroxidasa por Stereum hirsutum (Willd) Pers*. *Revista Iberoamericana de Micología*, 20: 176-8.
25. Murugesan K, Nam IH, Kim YM, Chang YS. 2007. *Decolorization of reactive dyes by a thermostable laccase produced by Ganoderma lucidum in solid culture*. *Enzyme and Microbial Technology*, 40: 1662-1672.
26. Narashima G, Sridevi A, Buddolla V, Subhosh CM, Rajasekhar RB (2005). *Nutrient effects on production of cellulosic enzymes by Aspergillus niger*. *African journal of biotechnology* 5(5):472-476.
27. Nyanhongo GS, Gomes J, Gübitz G, Zvaunya R, Read JS, Steiner W. 2002. *Production of laccase by a newly isolated strain of Trametes modesta*. *Bioresource Technology*, 84: 259-263.
28. Patel H, Gupte A, Gupte S. 2009. *Effect of different culture conditions and inducers on production of laccase by Basidiomycetes fungal isolate Pleurotus ostreatus HP-1 under solid state fermentation*. *BioResources*, 4: 268-284.
29. Quarantino D, Ciaffi M, Federici E, D'annibale A. 2008. *Response surface methodology study of laccase production in Panus tigrinus liquid cultures*. *Biochemical Engineering Journal*, 39: 236-245.
30. Rajendran K, Annuar MSM, Karim MAA. 2011. *Optimization of nutrient levels for laccase fermentation using statistical techniques Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, 19: 73-81
31. Rancano G, Lorenzo M, Molares N, Rodríguez S, Sanromán MA. 2003. *Production of laccase by Trametes versicolor in an airlift fermentor*. *Process Biochemistry*, 39: 467-473.
32. Rodríguez S, Fernández M, Bermúdez RC, Morris H. 2003. *Tratamiento de efluentes industriales coloreados con Pleurotus spp.* *Revista Iberoamericana de Micología*, 20: 164-168.
33. Salas C, Lobos S, Larraín J, Salas L, Cullen D, Vicuña R. 1995. *Properties of laccase isoenzymes produced by the basidiomycete Ceriporiopsis subvermispora*. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 21: 323-33.
34. Thurston CF. 1994. *The structure and function of fungal laccases*. *Microbiology*. 140: 19-26.
35. Tien M, Kirk TK. 1983. *Lignin-Degrading Enzyme from the Hymenomycete Phanerochaete chrysosporium Burds*. *Science*, 221: 661-663.
36. Zhang H, Hong YZ, Xiao YZ, Yuan J, Tu XM, Zhang XQ. 2006. *Efficient production of laccases by Trametes sp. AH28-2 in cocultivation with a Trichoderma strain*. *Applied and Environmental Microbiology*, 73: 89-94

Recibido: 08/01/2019.

Aprobado: 09/08/2019.

INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

I. ALCANCE DE LA REVISTA

1) La Revista de Ciencia y Tecnología (RECyT) publica artículos originales que representan una contribución para el desarrollo científico-tecnológico. Incluye trabajos de investigación básica y aplicada y de desarrollo tecnológico, revisiones bibliográficas de alto impacto, notas técnicas y, eventualmente, estudios de casos que por su relevancia ameriten publicarse¹.

2) Las áreas de incumbencia de la revista son Ingeniería, Tecnología, Informática, Biología, Genética, Bioquímica, Farmacia, Educación Científica y Tecnológica, con su correspondiente tecnología. La decisión última sobre la incumbencia de un artículo presentado, quedará a cargo del Cuerpo Editorial.

3) Los autores interesados en publicar artículos en la RECyT, deberán enviar sus trabajos de acuerdo con las normas que se estipulan más abajo.

4) Los artículos sometidos para publicación no deberán tener "Derechos de Autor" otorgados a terceros, a la fecha de envío del artículo. Caso contrario, el autor deberá gestionar, ante quien corresponda, la autorización por escrito para su nueva publicación en la RECyT.

5) Los conceptos y opiniones vertidos en los artículos publicados y del uso que otros puedan hacer de ellos, son de exclusiva responsabilidad de los autores, la cual se asume con la sola presentación del artículo enviado por los autores para su publicación. Los artículos se publicarán en español, inglés o portugués, con resúmenes, títulos y palabras clave en los tres idiomas.

II. PRESENTACIÓN Y REVISIÓN DE ARTÍCULOS

6) Los idiomas oficiales de la RECyT son español, inglés y portugués. Los manuscritos en español deberán ajustarse a las normas y usos gramaticales que establece el Diccionario y la Gramática de la Lengua Española de la Real Academia Española en sus últimas ediciones. Se debe evitar el uso de términos en otros idiomas, si existe uno equivalente en español. Los manuscritos en inglés deberán ajustarse a las normas y usos gramaticales que establece el Longman Dictionary of Contemporary English 4th Edition, aplicándose aquí también, lo expresado respecto del español. Los manuscritos en portugués deberán ajustarse a las normas y usos gramaticales que establece el Dicionário

Aurélío da Língua Portuguesa 5ta Edição, aplicándose aquí también, lo expresado respecto del español.

7) El manuscrito se presentará en formato electrónico como archivo tipo Word, anexo por correo electrónico a la dirección: recyt@fceqyn.unam.edu.ar. Todas las comunicaciones con los autores (revisión y aceptación de artículos) se realizarán por correo electrónico.

8) Los trabajos presentados para publicar serán sometidos a una primera evaluación interna de incumbencia, calidad general y categoría a cargo del Cuerpo Editorial y posteriormente a una evaluación externa de pertinencia y calidad científica por miembros del Comité de Revisión. El Comité de Revisión está integrado por reconocidos especialistas en los temas de incumbencia de la RECyT.

9) El proceso general de evaluación consiste en una exhaustiva revisión crítica de los contenidos y la estructura del artículo, la recomendación, o no, de su publicación y eventuales correcciones.

10) El Cuerpo Editorial se reserva el derecho de rechazar el trabajo por no ajustarse a las áreas involucradas, no cumplir las normas establecidas o no poseer la calidad científica requerida.

También se reserva el derecho de realizar modificaciones menores de edición para una mejor presentación final del trabajo.

11) El Cuerpo Editorial notificará al autor la aceptación o rechazo del artículo. De ser necesario, le solicitará que realice las modificaciones recomendadas para proceder a los trámites pertinentes previos a su publicación.

12) Los autores deberán realizar las correcciones y modificaciones requeridas por el Cuerpo Editorial y el CE en el plazo de 30 días. Los autores podrán solicitar aclaraciones sobre las correcciones. El Cuerpo Editorial decidirá sobre el particular, y realizará la revisión del trabajo modificado.

13) La aceptación del trabajo en su forma definitiva será comunicada por escrito a los autores. A partir de ese momento no se aceptarán modificaciones, salvo solicitud explícita y fundamentada al Cuerpo Editorial.

14) Los trabajos originales quedarán en poder de la RECyT, se publiquen o no.

1- Un artículo se considera trabajo cuando representa el resultado y las conclusiones de una investigación completa. Este tendrá categoría de nota técnica cuando trate de cuestiones como calibraciones, propuestas metodológicas, opiniones sobre normas, resolución de problemas operativos, etc.

III. NORMAS DE ELABORACIÓN DE ORIGINALES

Artículos

15) Los artículos completos deberán tener como máximo 6.000 palabras, 12 figuras y hasta 20 páginas. El Cuerpo Editorial podrá aceptar trabajos de mayor extensión en casos especiales.

En todos los casos deberá utilizarse letra tipo Arial tamaño 11 puntos, y formato de hojas tipo A4, numeradas en el margen inferior derecho, con interlineado doble, sin separación automática de sílabas al fin de línea y con los cuatro márgenes de 2,5 cm.

16) Las tablas y figuras deberán insertarse en el texto del artículo y deberán ubicarse lo más cerca posible del sitio en el que son mencionadas. De acuerdo con su tamaño, podrán presentarse por separado, correctamente identificadas.

Las figuras escaneadas deberán estar en formato TIFF y EPS, con 300 dpi de resolución. El CD podrá pedir a los autores, una vez aceptado el trabajo, que entregue las imágenes y los gráficos del artículo, con el formato, tamaño, dimensiones, resolución, etc. necesarios para la edición.

17) Los artículos científico-técnicos escritos en español e inglés se organizarán siguiendo el esquema general en orden sucesivo: título en español, nombres del (los) autores, nombres y direcciones de la institución a la que pertenecen, resumen y palabras clave en español, título en inglés, resumen y palabras clave en inglés. Los artículos científico-técnicos escritos en portugués se organizarán siguiendo el esquema general en orden sucesivo: título en español, nombres del (los) autores, nombres y direcciones de la institución a la que pertenecen, resumen y palabras clave en español, título en inglés, resumen y palabras clave en inglés, título en portugués, resumen y palabras clave en portugués. Posteriormente, en el idioma que corresponda, introducción, materiales y métodos, resultados y discusión, (juntos o separados), conclusiones, lista de abreviaturas (si corresponde), agradecimientos, referencias y apéndices o anexos (si corresponde).

18) Título en español: deberá ser breve (no mayor de 15 palabras), conciso y reflejar aspectos específicos del trabajo. Deberá corresponderse con el título en inglés y/o portugués.

19) Autores: se colocarán los autores separados por punto y coma, situando primero el o los apellidos seguidos de una coma, y a continuación, el primer nombre e inicial del segundo con un punto.

20) Dirección: debajo de los autores se indicará la institución a la que pertenecen o dónde fue llevado a cabo el

trabajo. Si los autores pertenecen a distintas instituciones, luego de cada nombre se colocará un número entre paréntesis, estableciéndose así la referencia a las instituciones y sus respectivas direcciones. Se sugiere incluir los nombres de las secciones y dependencias imprescindibles. Señalar, entre paréntesis, las direcciones electrónicas personales.

21) Resumen en español: deberá ser una condensación de todas las partes del trabajo en 150 palabras como máximo, sintetizando los objetivos, los métodos, los resultados y las conclusiones. Debe corresponderse al contenido del Resumen en inglés y/o portugués.

22) Palabras clave en español: el artículo deberá contener 5 palabras clave en idioma español, que servirán para catalogarlo en las bases de datos².

23) Título en inglés: deberá ser breve (no mayor a 15 palabras), conciso y reflejar aspectos específicos del trabajo. Deberá corresponderse con el título en español y/o portugués.

24) Resumen en inglés (Abstract): deberá ser una condensación de todas las partes del trabajo en 150 palabras como máximo, sintetizando los objetivos, los métodos, los resultados y las conclusiones. Debe corresponderse al contenido del Resumen en español y/o portugués.

25) Palabras clave en inglés (Key words): el artículo deberá contener 5 palabras clave en idioma inglés, que servirán para catalogarlo en las bases de datos².

26) Título en portugués: deberá ser breve (no mayor a 15 palabras), conciso y reflejar aspectos específicos del trabajo. Deberá corresponderse con el título en español e inglés.

27) Resumen en portugués (Resumo): deberá ser una condensación de todas las partes del trabajo en 150 palabras como máximo, sintetizando los objetivos, los métodos, los resultados y las conclusiones. Debe corresponderse al contenido del Resumen en español e inglés.

28) Palabras clave en portugués (Palavras-chave): el artículo deberá contener 5 palabras clave en idioma portugués, que servirán para catalogarlo en las bases de datos².

29) Introducción: debe presentar claramente el tema, haciendo solamente referencia a los antecedentes bibliográficos de interés. Los objetivos y las hipótesis deberán estar adecuadamente explicados.

30) Materiales y Métodos: el trabajo deberá describir en forma completa los materiales y metodologías utilizados.

Las normas reconocidas deberán ser citadas pero no explicadas.

Las técnicas publicadas deberán presentar en forma resumida sus características principales y las referencias correspondientes. Deberán detallarse todas las modificaciones efectuadas a cualquier norma o técnica³.

2- Si la disciplina que trata el artículo posee tesauros publicados, se sugiere utilizarlos para la definición de las palabras clave.

3- El criterio general es que con los datos de este ítem se pueda replicar correctamente el trabajo experimental. 4- Además de las que poseen signatura, se podrán colocar referencias inéditas o en prensa (indicando la revista en que se publicarán), comunicaciones personales y páginas web.

31) Resultados y Discusión: estas dos secciones podrán incluirse juntas o separadas. Los resultados se expondrán con estilo conciso y fácilmente entendible. La discusión de los resultados incluirá la comparación con resultados previos (propios o de otros autores, con las referencias correspondientes).

Se deberá evitar la duplicación de información en tablas y gráficos.

32) Conclusiones: deben presentarse en párrafos cortos y concretos. No deben hacer referencia a trabajos futuros ni a hipótesis no incluidas en el trabajo.

33) Agradecimientos: podrán incluirse a los organismos que financiaron el trabajo, así como a los colaboradores y al personal técnico o especializado, especificando las tareas realizadas por cada uno. Como referencia institucional de los autores se colocará el nombre completo de la entidad y la sigla entre paréntesis, por ejemplo, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

34) Referencias: las citas bibliográficas deberán consignarse con números correlativos colocados entre corchetes o paréntesis, de tamaño igual al del texto. El texto puede incluir nombres de autores, pero conjuntamente figurar el número de referencia bibliográfica correspondiente. En el ítem correspondiente, se consignarán según el orden en que aparezcan en el texto. No se incluirán referencias que no figuran en el texto. Las referencias se colocarán según el estilo de la disciplina correspondiente, figurando, en todos los casos: apellido e iniciales de los nombres de los autores en ese orden; nombre de la publicación periódica completo o con las abreviaturas oficiales; volumen; número, páginas inicial y final, año de publicación⁴. En el caso de libros: nombre; capítulo; editorial, páginas y año de edición. Las páginas web deberán tener la fecha de consulta.

Ejemplos orientativos:

1. Atanassov, Z; Zheringe, P y Wharton D., Evaluation of Wheat Response to Fusarium Head Blight Bases on Seed Set., Appl. Environm. Chem. 48: p. 993–998.1994.

2. Cole, R.J. y Cox R.H., Handbook of Toxic Fungal Metabolites, Assoc.Press, New York. p 356–379.1981.

3. Cotty, P.J., Agriculture, Aflatoxins and Aspergillus in The genus Aspergillus, K. A. Powll, Editor. Plenum Press, New York. p 1–27.1994.

4. National Agricultural Statistics Service (1997) Crops county data [Online]. Available at <http://usda.mannlib.cornell.edu/data-sets/crops/9X100> (verified 30 Nov. 1998).

35) Apéndices o Anexos: se reservan para detallar técnicas originales utilizadas o análisis teóricos que impedirían seguir fluidamente el trabajo si se incluyeran en el texto.

Las tablas de los apéndices pueden llevar números correlativos con los del texto o comenzar otra numeración.

36) Figuras: las figuras (gráficos, cuadros, fotografías, otros) deberán numerarse correlativamente en orden de aparición en el texto y deberán incluir un breve título explicativo en la parte inferior de la figura. Las imágenes y fotografías se designarán como figuras.

37) Tablas: las tablas deberán numerarse correlativamente según su orden de aparición en el texto y en forma independiente de las figuras. Deberán incluir un título explicativo en su parte superior. De ser necesario se agregarán al pie notas explicativas para detallar abreviaturas, signos, medidas, otros, de tal manera que el lector pueda comprender su contenido sin recurrir al texto.

38) Fórmulas: las fórmulas y expresiones matemáticas deberán ser escritas dejando dos espacios sobre, debajo y entre cada una de ellas. Las fórmulas se ajustarán al margen izquierdo y serán numeradas correlativamente y entre paréntesis sobre el margen derecho. Debe quedar definido el significado y las unidades utilizadas en cada término de las expresiones.

39) Unidades: debe utilizarse el sistema internacional de unidades (SI).

40) Presentar además:

- Un título resumido del trabajo, de 9 palabras como máximo.

- Datos de los autores: 80 palabras como máximo. Apellido y Nombres; Título de Grado; Estudios de Posgrado; Cargo / Posición en el lugar de trabajo; Categoría en el Sistema de Incentivos a los Docentes–Investigadores (si es argentino) o similar. Correo electrónico.

Notas técnicas

41) La Nota Técnica es el formato recomendado de presentación de investigaciones originales en los siguientes casos: divulgación de nuevos métodos, comparación del funcionamiento de instrumentos o técnicas, y descripción de los resultados experimentales de interés para la comunidad científica cuando no se pueden realizar investigaciones completas por alguna causa justificada. Deberán limitarse a 10 páginas o 3500 palabras, con no más de 4 figuras y tablas, y no más de 15 referencias, combinando resultados y discusión en una sola sección. El resto del formato será igual al de los artículos. Las Notas Técnicas son sometidas al mismo proceso riguroso de revisión por pares que los artículos.

4- Además de las que poseen signatura, se podrán colocar referencias inéditas o en prensa (indicando la revista en que se publicarán), comunicaciones personales y páginas web.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

I. Scope of the journal

1) The Journal of Science and Technology (RECyT) publishes original articles which represent a contribution to scientific and technological development. It includes works on basic and applied research and technological development, high-impact bibliographical reviews, technical notes, and occasionally case studies which, due to their relevance, deserve their publication¹.

2) The areas of concern are Engineering, Technology, Computer Science, Biology, Genetics, Biochemistry, Pharmacy, Scientific and Technological Education, with their corresponding technology. The final decision on the relevance of an article submitted will be the responsibility of the Editorial Board.

3) Authors who are interested in publishing articles in the RECyT should send their manuscripts in accordance with the norms established below.

4) The articles submitted for publication should not have "Copyright" granted to a third party at the date of submission of the article. Otherwise, the author should request written permission for a new publication in the RECyT.

5) The concepts and opinions expressed in the articles published and their use by others are the sole responsibility of the authors, which is assumed by merely submitting the paper for publication. Articles will be published in Spanish, English or Portuguese, with their abstracts, titles and keywords in three languages.

II. Submission and review of articles

6) The official languages of RECyT are Spanish, English and Portuguese. Contributions in Spanish must conform to the grammatical rules and practices established by the Dictionary and Grammar of Spanish Language of the Spanish Royal Academy in its latest edition. It is advisable to avoid terms in other languages, as long as there is an equivalent in Spanish. Manuscripts in English should conform to the grammatical rules and practices established by the Longman Dictionary of Contemporary English 5th Edition, authors should comply with the norms established for manuscripts in Spanish. Manuscripts in Portuguese should conform to Dicionário Aurélio da Língua Portuguesa 5ta Edição, authors should also comply with the norms established for manuscripts in Spanish.

7) The manuscript should be submitted electronically

as a Word file, attached by email to: recyt@fceqyn.unam.edu.ar. All the communications with the authors (review and acceptance of articles) will be carried out by email.

8) Manuscripts submitted for publication will first undergo an internal evaluation regarding its relevance, overall quality and category, by the Editorial Board and later, to an external evaluation of relevance and scientific quality by Members of the Review Committee. The Review Committee comprises recognized specialists of the subject area of the RECyT.

9) The general process of Evaluation consists of a comprehensive critical evaluation of the contents and structure of the article, the recommendation or not, of its publication and possible corrections.

10) The Editorial Board reserves the right to reject the work if it does not conform to the areas involved, does not meet the standards established, or does not have the required scientific quality. It also reserves the right to make minor editing changes for a better final presentation of the work.

11) The Editorial Board will notify the author the acceptance or rejection of the article. If necessary, the recommended changes will be asked to proceed with the pertinent steps previous to its publication.

12) Authors should make the corrections and modifications required by the Editorial Board within 30 days. Authors could ask for clarification about the corrections made. The Editorial Board will decide whereafter, and will carry out the modifications requested.

13) The final acceptance of the manuscript will be notified to authors in written. After this step, no further changes will be accepted, unless explicitly requested and clearly justified to the Editorial Board.

14) The original manuscripts will be kept by the RECyT, whether published or not.

III. Manuscript writing rules

Articles

15) Full papers should be up to 6000 words, 12 figures and 20 pages. The Editorial Board may accept longer works in special cases. In all cases, authors should use Arial font, point size 11, and A4 sheets, numbered in the lower right margin, with double spacing, without automatic hyphenation at end of the line, and all margins of 2.5 cm.

16) Tables and figures should be inserted within the text

¹- A manuscript will be considered a full paper when it represents the outcome and conclusions of a full investigation. It will be considered a technical note when dealing with issues such as calibration, methodological proposals, opinions about standards, resolution of operational problems, etc

of the article and located as close as possible to the paragraph where they are mentioned. According to their size, they may be submitted separately, and correctly identified. The scanned figures should be in TIFF and EPS formats, with a 300 dpi resolution. The EB could ask authors to submit the images and graphs of the article, with the format, size, dimensions, resolution, etc. necessary for the edition, once the article has been accepted.

17) Scientific-technical articles written in Spanish and English will be organized following a general scheme as follows: title in Spanish, name of author/s, affiliation (name and address), abstract and keywords in Spanish, title in English, abstract and keywords in English. Scientific-technical articles written in Portuguese will be organized following a general scheme as follows: title in Spanish, name of author/s, affiliation (name and address), abstract and key words in Spanish, title in English, abstract and keywords in English, title in Portuguese, abstract and key words in Portuguese. Then, in the corresponding language: introduction, materials and methods, results and discussion (separately or together), conclusions, list of abbreviations (if applicable), acknowledgments, references and appendices or annexes (if applicable) in the corresponding language (i.e. Spanish, English or Portuguese).

18) Title in Spanish: it should be brief (no more than 15 words) and concise, and should reflect the specific aspects of the work. It must correspond to the title in English.

19) Authors: the authors should be separated by semicolons, placing first the last name followed by a comma, and then the first name and middle initial.

20) Institutional affiliation: affiliation of authors or where the work was carried out should be indicated below the authors. If the authors have different affiliations, a number will be placed in parenthesis after each name, thus establishing the reference to the institutions and their respective addresses. It is suggested that only the names of the essential sections and departments be included. The email addresses of each author should be indicated between parentheses.

21) Abstract in Spanish: It must be a condensation of all parts of the work in 150 words or less, summarizing the objectives, methods, results and conclusions. It must correspond to the content of the Abstract in Spanish and/or Portuguese.

22) Key words in Spanish: The article should contain five key words in Spanish, which will serve to categorize the work in databases².

23) Title in English: It should be brief (no more than 15 words) and concise, and should reflect the specific aspects of the work. It must correspond to the title in Spanish and/

or Portuguese.

24) Abstract in English: It must be a condensation of all parts of the work in 150 words or less, summarizing the objectives, methods, results and conclusions. It must correspond to the content of the Abstract in Spanish and/or Portuguese.

25) Key words in English: The article should contain five key words in English, which will serve to categorize the work in databases².

26) Title in Portuguese: It should be brief (no more than 15 words) and concise, and should reflect the specific aspects of the work. It must correspond to the title in Spanish and English.

27) Abstract in Portuguese (Resumo): it should be a condensation of all parts of the work in 250 words or less, summarizing the objectives, methods, results and conclusions. It must correspond to the content of the Spanish and English abstract.

28) Key words in Portuguese (Palavras-chave): The article should contain five key words in Portuguese, which will serve to categorize the work in databases².

29) Introduction: it should present the subject clearly, making reference only to bibliography of interest. The objectives and hypotheses must be adequately explained.

30) Materials and Methods: The paper must fully describe the materials and methodology used. Recognized norms should be quoted but not explained. The techniques published should briefly include their main features and the corresponding references. Details of all modifications made to any norm or technique should be indicated³.

31) Results and Discussion: These two sections may be included either together or separately. The results should be presented concisely and should be easy to understand. The discussion of the results should include a comparison with previous results (either the authors' own previous results or those of others, with the corresponding references). The authors should avoid duplication of information in tables and graphs.

32) Conclusions: the conclusions should be presented in short and concise paragraphs and must not refer to future work and hypotheses not included in the work.

33) Acknowledgements: these could include the organisms funding the work, as well as the names of the collaborators and technical or specialized staff, specifying the tasks performed by each. For institutional reference of authors, the name of the entity in full and the acronym in parentheses, for example, "Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)" should be.

34) References: References should be mentioned with consecutive numbers in parentheses or square brackets, and

2- If the article is about a discipline which has published thesauri, it is suggested that they be used to define the key words.

3- The general criterion is that the experimental work could be replicated correctly with the data in this item.

should be equal in size to that of the text. The text can include authors' names, but should also include the corresponding reference number. They should be listed according to the order in which they appear in the text. References not mentioned in the text should not be listed. References will be written according to the style of the corresponding discipline, mentioning in all cases: the last name and initials of the authors' names, the complete name or the official acronym of the journal, the volume, number, initial and final pages, and year of publication. For books: name, chapter, publisher, pages and year of publication. The web pages must have the date of access⁴. For books: name; chapter: publishers; pages and year of edition. Web pages should include the date they were retrieved.

Examples:

1. Atanassov, Z.; Zheringe, P. and Wharton D., Evaluation of Wheat Response to Fusarium Head Blight Bases on Seed Set, *Appl. Environm., Chem.* 48: p 993-998. 1994.
2. Cole, R.J. and Cox R.H., *Handbook of Toxic Fungal Matabolites*, Assoc. Press, New York. p 356-379. 1981.
3. Cotty, P.J., *Agriculture, Aflatoxins and Aspergillus in The genus Aspergillus*, K.A. Powll, Editor. Plenum Press, New York. p 1-27. 1994.
4. National Agricultural Statistics Service (1997) Crops county data [Online]. Available at <http://usda.mannlib.cornell.edu/data-sets/crops/9X100> (verified 30 Nov. 1998).

35) Appendices or Annexes: Appendices and Annexes are reserved to describe in detail the original techniques used, or theoretical analysis that would prevent the reader from following the manuscript fluently if they were included in the text. The tables in the appendices may bear numbers that correlate to the text or new numbers.

36) Figures: figures (graphs, charts, photographs, etc.) should be numbered in the order in which they appear in the text and should include a brief caption at its bottom. Images and photographs will be designated as figures.

37) Tables: Tables should be numbered in the order in which they appear in the text and independently of the figures. They must include an explanatory title on the top. If necessary, explanatory notes should be added as footer, detailing abbreviations, symbols, dimensions, etc, so that

the reader can understand their content without referring to the text.

38) Formulas: Formulas and mathematical expressions should be written leaving two spaces above, below and between each other. Formulas should be adjusted to the left margin and should be numbered correlatively and in parentheses on the right margin. The meaning and units used in each term of the expressions should be defined.

39) Units: the International System of Units (SI) should be used.

40) The authors should also provide:

- A short title of the work, comprising nine words or less.
- Authors' information: 80 words or less. Surname and Names; degree; postgraduate studies; position in the place of work; category in the Incentive System for Lecturers-Researchers (if they are Argentine) or similar; email address.

Technical Notes

41) A technical note is the recommended format for submission of original research in the following cases: description of new methods, comparison of the performance of instruments or techniques, and description of the experimental results of interest to the scientific community when a full investigation cannot be carried out for any reason. They should be limited to 10 pages or 3500 words, with no more than four figures and tables, and no more than 15 references, combining results and discussion into one section. The rest of the format will be equal to that of the articles. Technical Notes will be subjected to the same rigorous peer review process as the articles.

4- Besides those which have signature, unpublished references or in press (indicating the magazine where they will be published), personal communications and web pages can also be mentioned.

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

I. Alcance da revista

1) A Revista de Ciência e Tecnologia (RECyT) publica artigos originais que representam uma contribuição para o desenvolvimento científico-tecnológico. Inclui trabalhos de investigação básica e aplicada e de desenvolvimento tecnológico, revisões bibliográficas de alto impacto, notas técnicas e eventualmente, estudos de casos que pela sua relevância mereçam ser publicados¹.

2) As áreas de incumbência da Revista são Engenharia, Tecnologia, Informática, Biologia, Genética, Bioquímica, Farmácia, Educação Científica e Tecnológica, com sua correspondente tecnologia. A decisão última sobre a incumbência de um artigo apresentado ficará a cargo do Conselho de Direção (CE).

3) Os autores interessados em publicar artigos na RECyT, deverão enviar seus trabalhos segundo as normas apresentadas mais abaixo.

4) Os artigos submetidos para a publicação não deverão ter “Direitos de Autor” outorgados a terceiros, à data de envio do artigo. Caso contrário, o autor deverá gerenciar, ante quem corresponder, a autorização por escrito para sua nova publicação na RECyT.

5) Os conceitos e opiniões expostos nos artigos publicados e o uso que outros possam fazer deles, são de exclusiva responsabilidade dos autores, a qual é assumida com a só apresentação do artigo para sua publicação. Os artigos se publicam em espanhol, inglês ou português, com resumos, títulos e palavras-chave nos três idiomas.

II. Apresentação e revisão de artigos

6) Os idiomas oficiais da RECyT são o espanhol, o inglês e o português. Os manuscritos em espanhol deverão se ajustar às normas e usos gramaticais que estabelece o Dicionário e a Gramática da Língua Espanhola da “Real Academia Espanhola” em suas últimas edições. Deve-se evitar o uso de termos em outros idiomas, caso exista um equivalente em espanhol. Os manuscritos em inglês deverão se ajustar às normas e usos gramaticais que estabelece o Longman Dictionary of Contemporary English 4th Edition, aplicando-se aqui também, o expresse respeito do espanhol. Os manuscritos em português deverão se ajustar às normas e usos gramaticais que estabelece o Dicionário Aurélio da Língua Portuguesa 5ta Edição, aplicando-se aqui também o expresse respeito do espanhol.

7) O manuscrito se apresentará em formato eletrônico como arquivo tipo Word, anexo por correio eletrônico ao endereço: recyt@fceqyn.unam.edu.ar. Todas as comunicações com os autores (revisão e aceitação de artigos) se realizarão pelo correio eletrônico.

8) Os trabalhos apresentados para publicar serão submetidos a uma primeira avaliação interna de pertinência, qualidade geral e categoria a cargo do Corpo Editorial e, posteriormente a uma avaliação externa de pertinência e qualidade científica pelos integrantes do Comitê de Revisão. O Comitê de Revisão está integrado por reconhecidos especialistas nos temas de incumbência da RECyT.

9) O processo geral de avaliação consiste numa exaustiva revisão crítica dos conteúdos e da estrutura do artigo, a sugestão, o não, de sua publicação e eventuais correções.

10) A Corpo Editorial se reserva o direito de rejeitar o trabalho por não se ajustar às áreas em referência, não cumprir as normas estabelecidas ou não possuir a qualidade científica requerida. Também se reserva o direito de realizar modificações menores de edição para uma melhor apresentação final do trabalho.

11) A Corpo Editorial notificará ao autor a aceitação ou rejeição do artigo. Caso ser necessário lhe solicitará que faça as modificações sugeridas para continuar com os trâmites pertinentes prévios a sua publicação.

12) Os autores deverão realizar as correções e modificações requeridas pela Corpo Editorial num prazo de 30 dias. Os autores poderão solicitar esclarecimentos sobre as correções. O CE decidirá sobre o particular e realizará a revisão do trabalho modificado.

13) A aceitação do trabalho em forma definitiva será comunicada por escrito aos autores. A partir desse momento não se aceitarão modificações, exceto solicitude explícita e fundamentada à Corpo Editorial.

14) Os trabalhos originais ficarão no poder da RECyT, se publiquem ou não.

III. Normas para a elaboração de originais

Artigos

15) Os artigos completos deverão ter no máximo 6.000 palavras, 12 figuras e até 20 páginas. A Corpo Editorial poderá aceitar trabalhos de maior extensão em casos especiais.

Em todos os casos se deverão utilizar letra tipo Arial, corpo 11 e formato de folha tipo A4, numeradas na margem

1- Um artigo se considera trabalho quando apresenta os resultados e conclusões de uma pesquisa completa. Este terá categoria de Nota Técnica quando apresente questões como calibrações, propostas metodológicas, opiniões sobre normas, resolução de problemas operativos, etc.

inferior direita, com espaçamento duplo, sem separação automática de sílabas no fim de linha e com as quatro margens de 2,5 cm.

16) As tabelas e figuras se deverão inserir no texto do artigo e deverão se colocar o mais perto possível do sítio no qual são nomeadas. Tendo em conta seu tamanho poderão se apresentar por separado, corretamente identificadas.

As figuras scaneadas deverão estar em formato TIFF e EPS, com 300 dpi de resolução. A Corpo Editorial poderá pedir aos autores, uma vez aceito o trabalho, que façam entrega das imagens e os gráficos do artigo, com o formato, tamanho, dimensões, resolução, etc. necessários para a edição.

17) Os artigos científicos - técnicos escritos em espanhol e inglês se organizarão seguindo o esquema geral em ordem sucessivo: título em espanhol, nome (s) de o (os) autor (es), nomes e endereços da instituição a qual pertencem, resumo e palavras-chave em espanhol, título em inglês, resumo e palavras-chave em inglês.

Os artigos científicos- técnicos escritos em português se organizarão seguindo o esquema geral em ordem sucessivo: título em espanhol, nome (s) de o (os) autor (es), nomes e endereços da instituição a qual pertencem, resumo e palavras-chave em espanhol, título em inglês, resumo e palavras-chave em inglês, título em português, resumo e palavras-chave em português. Logo, no idioma que corresponder, introdução, materiais e metodologia, resultados e discussão, (juntos ou separados), conclusões, lista de abreviaturas (se corresponder), agradecimentos, referências e apêndices ou anexos (se corresponder).

18) Título em espanhol: Deverá ser breve (no maior a 15 palavras), conciso e dar conta de aspectos específicos do trabalho. Deverá se corresponder com o título em inglês e/ou português.

19) Autores: Deverão ser nomeados separados por ponto e vírgula. Primeiro os sobrenomes seguidos de vírgula, e a continuação, o primeiro nome e inicial do segundo com um ponto.

20) Endereço: Em baixo dos autores se indicará a instituição a qual pertencem ou onde foi desenvolvido o trabalho. Caso os autores pertençam a diferentes instituições, logo de cada nome se escreverá um número entre parênteses, se estabelecendo assim a referência as instituições e seus respectivos endereços. Sugere-se incluir os nomes das seções e dependências imprescindíveis. Indicar, entre parênteses, os endereços eletrônicos pessoais.

21) Resumo em espanhol: Deverá ser uma condensação de todas as partes do trabalho num máximo de 150 palavras sintetizando os objetivos, a metodologia, os resultados e as conclusões. Deve se corresponder com o conteúdo do Resumo em inglês e/ou português.

22) Palavras - chave em espanhol: O artigo deverá conter 5 palavras-chave no idioma espanhol, que servirão para catalogá-lo nas bases de dados².

23) Título em inglês: Deverá ser breve (no maior a 15 palavras), conciso e dar conta dos aspectos específicos do trabalho. Deverá se corresponder com o título em espanhol e/ou português.

24) Resumo em inglês (Abstract): Deverá ser uma condensação de todas as partes do trabalho num máximo de 150 palavras, sintetizando os objetivos, a metodologia, os resultados e as conclusões. Deve se corresponder com o conteúdo do resumo em espanhol e/ou português.

25) Palavras - chave em inglês (Key words): O artigo deverá conter 5 palavras-chave no idioma inglês, que serão de utilidade para catalogá-lo nas bases de dados².

26) Título em português: Deverá ser breve (no maior a 15 palavras), conciso e dar conta dos aspectos específicos do trabalho. Deverá se corresponder com o título em espanhol e inglês.

27) Resumo em português (Resumo): Deverá ser uma condensação de todas as partes do trabalho num máximo de 150 palavras, sintetizando os objetivos, a metodologia, os resultados e as conclusões. Deve se corresponder com o conteúdo do Resumo em espanhol e inglês.

28) Palavras - chave em português (Palavras - chave): O artigo deverá conter 5 palavras-chave no idioma português, que servirão para catalogá-lo nas bases de dados².

29) Introdução: Deve apresentar com clareza o tema, fazendo referência somente aos antecedentes bibliográficos de interesse. Os objetivos e as hipóteses deverão estar adequadamente explicados.

30) Materiais e Metodologia: O trabalho deverá descrever de maneira completa os materiais e metodologias utilizados. As normas reconhecidas deverão ser citadas mas não explicadas.

As técnicas publicadas deverão apresentar em forma resumida suas características principais e as referências correspondentes. Deverão se detalhar todas as modificações realizadas a qualquer norma o técnica³.

31) Resultados e Discussão: Estas duas seções poderão se incluir juntas ou separadas. Os resultados serão expostos com estilo conciso e facilmente compreensível. A discussão dos resultados incluirá a comparação com resultados prévios (próprios ou de outros autores, com as referências correspondentes). Deverá - se evitar a duplicação de informação em tabelas e gráficos.

32) Conclusões: Devem se apresentar em parágrafos curtos e concretos. Não devem fazer referência a trabalhos futuros nem a hipóteses não incluídas no trabalho.

33) Agradecimentos: Poderão se incluir os órgãos que financiaram o trabalho, assim como os colaboradores e o pessoal técnico ou especializado, especificando as tarefas

2- Caso a disciplina que é abordada pelo artigo possua tesouros publicados, se sugere utilizá-los para a definição das palavras-chave.

3- O critério geral é que com os dados deste item se possa replicar corretamente o trabalho experimental.

realizadas por cada um. Como referência institucional dos autores se escreverá o nome completo da entidade e a sigla entre parênteses, por exemplo: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

34) Referências: As citas bibliográficas deverão se consignar com números correlativos, entre parênteses, de tamanho igual ao do texto. O texto pode incluir nomes de autores, mas conjuntamente figurar o número de referência bibliográfica correspondente. No item correspondente, se consignarão segundo a ordem na que apareçam no texto.

Não se incluirão referências que não figuram no texto. As referências se colocarão segundo o estilo da disciplina em questão, figurando, em todos os casos: sobrenome e iniciais dos nomes dos autores nessa ordem; nome da publicação periódica completa ou com as abreviaturas oficiais, volume, número, página inicial e final, ano de publicação⁴. No caso de livros: nome, capítulo, editorial, página e ano de edição. As páginas web deverão ter a data de consulta.

Exemplos:

1. Atanassov, Z; Zheringe, P y Wharton D., Evaluation of Wheat Response to Fusarium Head Blight Bases on Seed Set., Appl. Environm. Chem. 48: p. 993–998.1994.

2. Cole, R.J. y Cox R.H., Handbook of Toxic Fungal Metabolites, Assoc.Press, New York. p 356–379.1981.

3. Cotty, P.J., Agriculture, Aflatoxins and Aspergillus in The genus Aspergillus, K. A. Powll, Editor. Plenum Press, New York. p 1–27.1994.

4. National Agricultural Statistics Service (1997) Crops county data [Online]. Available at <http://usda.mannlib.cornell.edu/data-sets/crops/9X100> (verified 30 Nov. 1998).

35) Apêndices ou Anexos: Reservam-se para detalhar técnicas originais utilizadas ou análises teóricos que seriam de impedimento para seguir fluidamente o trabalho caso foram inclusos no texto.

As tabelas dos apêndices podem levar números correlativos com os do texto ou iniciar outra numeração.

36) Figuras: As figuras (gráficos, Quadros, fotografias, outros) deverão se numerar correlativamente em ordem de aparição no texto e deverão incluir um breve título explicativo na parte inferior da figura. As imagens e fotografias se designarão como figuras.

37) Tabelas: As tabelas deverão se numerar correlativamente segundo sua ordem de aparição no texto e de maneira independente das figuras. Deverão incluir um título explicativo na parte superior. Caso ser necessário se somará no rodapé notas explicativas para esclarecer abreviaturas, signos, medidas, outros, de maneira que o leitor possa compreender seu conteúdo sem ter que ir para o texto.

38) Fórmulas: As fórmulas e expressões matemáticas deverão ser escritas deixando dois espaços sobre, embaixo e entre cada uma delas. As fórmulas se ajustarão à margem esquerda e serão numeradas correlativamente e entre parênteses sobre a margem direita. Deve ficar definido o significado e as unidades utilizadas em cada termo das expressões.

39) Unidades: Deve se utilizar o sistema internacional de unidades (SI).

40) Apresentar também:

- Um título resumido do trabalho, no máximo de 9 palavras.

- Dados dos autores: No máximo de 80 palavras. Sobrenome e Nomes; Título de Graduação e Pós-graduação; Cargo / Posição no local de trabalho; Categoria no Sistema de Incentivos de Docentes–Pesquisadores (se é argentino) ou semelhante. Correio eletrônico.

Notas técnicas

41) A Nota Técnica é o formato de apresentação sugerido para pesquisas originais nos seguintes casos: Divulgação de novas metodologias, comparação do funcionamento de instrumentos ou técnicas, e descrição dos resultados experimentais de interesse para a comunidade científica, quando não se possam realizar pesquisas completas por alguma causa justificada. Deverão se limitar a 10 páginas ou 3500 palavras, com não mais de 4 figuras e tabelas, e não mais de 15 referências, combinando resultados e discussão numa só seção. As demais características do formato serão iguais às dos artigos.

As Notas Técnicas são submetidas ao mesmo processo rigoroso de revisão por pares que os artigos.

4- Além das que possuir assinatura, se poderão colocar referências inéditas ou em imprensa (indicando a revista em que se publicarão), comunicações pessoais e páginas de Internet.

CONFIRMACIÓN DE AUTORÍA Y DERECHOS DE PUBLICACIÓN
al presentar un trabajo, completar y enviar por fax a la revista

Fecha: _____

Los autores del trabajo titulado:

confirman a través de sus firmas al final del texto que:

1. Este trabajo no fue enviado para publicación a ninguna otra revista científica;
2. Cada autor leyó y aprobó el trabajo enviado;
3. Si el trabajo pudiera afectar los derechos humanos, o ser causa de un eventual daño al medio ambiente, a los animales y/o a las generaciones futuras, los autores deberán informar las previsiones tomadas para evitar riesgos emergentes y garantizar el buen uso y manejo de la información;
4. Eventuales contenidos del texto o figuras u otras partes del manuscrito tomados de otras publicaciones están debidamente citados y en caso necesario, los permisos para publicaciones de tales partes son de responsabilidad de los autores;
5. En el caso específico de la Investigación Biomédica, los investigadores deben conocer y realizar las salvaguardas previstas en todos los requisitos éticos, legales y jurídicos, establecidos en las normas bioéticas nacionales e internacionales¹;
6. Los autores no tienen conflictos personales, financieros u otro tipo de conflictos de intereses y no han realizado ningún acuerdo que pueda interferir con el acceso a los datos de la investigación.

Nombre completo	Firma	Dirección electrónica

CONFIRMATION OF AUTHORSHIP AND PUBLICATION REGULATIONS
When submitting a manuscript, please complete and fax to the journal

Date: _____

The authors of the manuscript entitled:

by signing at the end of this text, certify that:

1. This article has not been previously published and is not under consideration for publication elsewhere;
2. All authors have seen and approved the manuscript being submitted;
3. If the article affects the human rights in any way, or is a reason of possible damage to the environment, animals and/or future generations, the authors will have to inform the precautions taken to avoid consequent risks and to guarantee the good use and managing of the information;
4. Contents of the text or figures or other parts of the manuscript taken from other publications should be declared when submitting; and in such a case, the permissions for publications of those parts are the author's responsibility;
5. In the specific case of the Biomedical Research, the investigators must know and be sure about all the ethical, legal and juridical requirements, established in the national and international bioethical procedures²;
6. The authors have no personal, financial or another type of conflicts of interests and have not assumed any agreement that could interfere with the access to the information of the research.

Full Name	Signature	e-mail

1- Nacionales: Disposición ANMAT 5330/97. Internacionales: Código de Núremberg, Declaración de Helsinki y sus modificaciones, Declaración Universal sobre Genoma Humano y Derechos Humanos aprobada por la Conferencia General de la UNESCO, del 11 de noviembre de 1997.

2- National: ANMAT 5330/97 file. International: Núremberg Code; Helsinki's declaration with modifications, Universal Declaration about Human Genome and Rights proved by UNESCO General Conference; on November 11th, 1997.

CONFIRMAÇÃO DE AUTORIA E DIREITOS DE PUBLICAÇÃO
Para apresentar um trabalho, preencher e enviar por fax à revista

Data: _____

Os autores do trabalho titulado:

Confirmam através de suas assinaturas no final deste texto que:

1. Este trabalho não foi submetido para a publicação em nenhuma outra revista científica;
2. Cada autor leu e aprovou o trabalho submetido;
3. Caso o trabalho pudesse afetar os direitos humanos, ou ser causa de um eventual dano ao médio ambiente, a os animais e/ou as gerações futuras, os autores deverão informar as previsões necessárias para evitar riscos emergentes e garantir o bom uso e emprego da informação;
4. Eventuais conteúdos do texto ou figuras ou outras partes do artigo retiradas de outras publicações estão devidamente referenciados e, caso necessário, as permissões para publicações desses conteúdos são de responsabilidade dos autores;
5. No caso específico da Investigação Biomédica, os pesquisadores devem conhecer e realizar as salvaguardas previstas em todos os requisitos éticos, legais e jurídicos, estabelecidos nas normas bioéticas nacionais e internacionais³;
6. Os autores não tem conflitos pessoais, financeiros ou outro tipo de conflitos de interesses nem tem realizado nenhum convênio que possa interferir com o acesso aos dados da pesquisa.

Nome e Sobrenome	Assinatura	Endereço eletrônico

3- Nacionais: Disposição ANMAT 5330/97. Internacionais: Código de Nuremberg, Declaração de Helsinki e suas modificações, Declaração Universal sobre Genoma Humano e Direitos Humanos aprovada pela Conferência Geral da UNESCO, do 11 de novembro de 1997.