



# Libro de Memorias

**I CONGRESO INTERNACIONAL EN  
BIOTECNOLOGÍA, AMBIENTE, QUÍMICA  
Y ALIMENTOS**

**DEL MIÉRCOLES 18 DE NOVIEMBRE  
AL VIERNES 20 DE NOVIEMBRE DE 2020**

# I CONGRESO INTERNACIONAL

BIOTECNOLOGÍA, AMBIENTE, QUÍMICA Y ALIMENTOS  
ECUADOR - 2020



DIRECCIÓN DE  
PUBLICACIONES

ISBN: 978-9942-801-18-0



9 789942 801180

# **Libro de Resúmenes del I Congreso Internacional de Biotecnología, Ambiente, Química y Alimentos**

**Riobamba – Ecuador  
2020**

**Editores:**

**Dra. Irene Gavilanes Terán PhD.**

**Dr. Julio César Idrovo Novillo PhD.**

**Ing. Víctor Hugo Valverde MsC.**

**ISBN:**

978-9942-801-18-0

## **COMITÉ ORGANIZADOR**

**Dra. Irene Gavilanes Terán, PhD.**

**Dr. Julio Idrovo Novillo, PhD.**

**Dra. Nancy Veloz Mayorga, PhD.**

**Ing. Rosa Pinos Neira, MsC.**

**Ing. Víctor Hugo Valverde Orozco, MsC.**

**Dra. Cumandá Carrera Beltrán, MsC.**

**Ing. Santiago Carrera Almendáriz, MsC.**

**Ing. Adrián Rodríguez Pinos, MsC.**

**Ing. Ana Gabriela Flores Huilcapi, MsC.**

**Ing. Paola Ocaña Coello, MsC.**

## **COMITÉ CIENTÍFICO**

**Dra. Concepción Paredes Gil, PhD.**

Escuela Politécnica Superior de Orihuela (EPSO)  
Universidad Miguel Hernández de Elche

**Dra. María De Los Ángeles Bustamante, PhD.**

Escuela Politécnica Superior de Orihuela (EPSO)  
Universidad Miguel Hernández de Elche

**Dr. Jorge Efrén Silva Yumi, PhD.**

Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

**Dr. Robert Cazar, PhD.**

Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

**Dr. Carlos Pilamunga Capus, PhD.**

Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

**Dr. Julio Idrovo Novillo, PhD.**

Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

**Dra. Nancy Veloz Mayorga, PhD.**

Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

**Dra. Irene Gavilanes Terán, PhD.**

Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

## **PONENTES MAGISTRALES**

**Dr. Diego G. Lamas, PhD.**

Universidad Nacional de San Martín – Argentina

**Dr. Milton Rosero, PhD.**

Universidad de Caldas – Colombia

**Dra. Concepción Paredes Gil, PhD.**

Universidad Miguel Hernández de Elche - España

**Dra. María De Los Ángeles Bustamante, PhD.**

Universidad Miguel Hernández de Elche - España

**Dr. Ángel Carbonell, PhD.**

Universidad Miguel Hernández de Elche - España

**Dra. Yolanda Moliner Martínez, PhD.**

Universidad de Valencia - España

**Dra. Belén Fernández, PhD.**

Institute for Food and Agricultural Research and  
Technology- España

**Dra. Lourdes Orejuela, PhD.**

Universidad San Francisco de Quito USFQ -  
Ecuador

# PRESENTACIÓN

La Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, en su afán de promover el intercambio y desarrollo del conocimiento en la comunidad científica, ha desarrollado a través del Grupo Asociado de Investigación en Biotecnología, Ambiente y Química GAIBAQ de la Facultad de Ciencias, el "I Congreso Internacional de Biotecnología, Ambiente, Química y Alimentos" celebrado en la ESPOCH los días 18, 19 y 20 de noviembre de 2020.

En este libro de memorias se recopilan las comunicaciones presentadas en las diferentes áreas como la Biotecnología aplicada a procesos industriales y de remediación ambiental, la Química y el desarrollo de la ciencia y tecnología a su servicio, la Seguridad Alimentaria aplicada al desarrollo de nuevos productos alimenticios bajo un enfoque de economía circular, en el campo Ambiental se presentan investigaciones referentes al manejo sostenible de los residuos sólidos y líquidos que incluyen alternativas de aprovechamiento capaces de mitigar los problemas ambientales asociados al desarrollo de sistemas productivos.

Finalmente, queremos destacar la elevada calidad científica de las ponencias magistrales y comunicaciones que se recogen en la presente publicación, que pretende ser la primera de una larga serie de futuros congresos.

**COMITÉ ORGANIZADOR**

## ÍNDICE

La Gestión Ambiental, una poderosa herramienta para la Sostenibilidad .....	9
El polimorfismo cristalino en la industria: la clave para optimizar el producto.....	10
Evaluación de la calidad de los compost y normativa asociada para su correcto uso agrícola.....	11
Aplicación de lineamientos de la Evaluación Ambiental de Sitio (Fase I y Fase II) en estaciones de servicio .....	13
Contaminación por metales pesados por la influencia del volcán Tungurahua en la provincia de Chimborazo (Ecuador).....	14
Manejo sostenible de los residuos agroindustriales generados en la parroquia de San Andrés .....	16
Nanopartículas de alofán para aplicaciones energéticas. ....	17
Hacia la Sostenibilidad con la Bioeconomía Circular y la Biorrefinería de Sub-Productos Agrícolas y Agroindustriales Aplicando Química e Ingeniería Verde: Tres Estudios de Caso en Ecuador .....	18
Desarrollo de fibras SPME lab-made a partir de eco-materiales (arcilla modificada) revestida en fina película por deposición física de vapor. 20	
El compostaje en un entorno de economía circular y cambio climático .....	22
Nuevos materiales para el tratamiento de muestras medioambientales en línea .....	23
Leches fermentadas, oportunidades para innovar.....	25
Efectos del consumo de <i>Lupinus mutabilis</i> Sweet (chochos) en enfermedades cardio- metabólicas .....	26
Degradación bacteriana de lignina: diversidad en los mecanismos de oxidación y metabolismo de la lignina.....	27
Extractos acuosos de hongos enriquecidos con ergotioneina con actividad antioxidante y su efecto en fibroblastos dérmicos humanos irradiados con UV. ....	29
Preparación de quitina y nanoquitina a partir de subproductos de hongos comestibles ( <i>Agaricus Bisporus</i> ) y cangrejo de río ( <i>Procambarus Clarkii</i> ). ....	41
Tratamiento biológico de aguas residuales provenientes de plantas procesadoras de quinua.....	53
Obtención de extruido de quinua ( <i>Chenopodium quinoa</i> Willd) sabor a vainilla, chocolate, maracuyá y su proceso industrial .....	66



## **La Gestión Ambiental, una poderosa herramienta para la Sostenibilidad**

F. Carrillo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Urb. La Pampa, Pomasqui, Código Postal No. 170308, Quito, Ecuador,  
e-mail: [fcarrillo@hotmail.com](mailto:fcarrillo@hotmail.com)

### **Resumen**

En las últimas décadas, el desarrollo sostenible ha sido el eje alrededor del cual se ha construido una agenda global, que ha logrado consensuar en la comunidad internacional los objetivos y metas que se han de alcanzar para lograr el anhelado equilibrio social, ambiental y económico. Los profundos y permanentes cambios en la coyuntura socio económica, el agotamiento de los recursos naturales y una creciente sociedad mediática, exigen de las organizaciones una postura más responsable y humana en relación con el uso de dichos recursos, que las ha obligado a fortalecer su desempeño, revisar sus procesos, mejorar su imagen corporativa, obtener la confianza de sus clientes, adaptarse a las demandas presentes, teniendo como premisa, garantizar la satisfacción de las necesidades de las generaciones futuras. En este contexto, la Gestión Ambiental surge como una herramienta que, a través de la adopción de comportamientos socioambientales amigables, del establecimiento de metodologías y tecnologías idóneas, del cumplimiento regulatorio, del acceso a las oportunidades e incentivos ambientales, de la identificación de las interrelaciones con los elementos social y económico, así como de la implementación de procesos que busquen optimizar el consumo de recursos naturales, aportará de manera sustancial al logro de los objetivos que las naciones han comprometido y ratificado en la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible.

**Palabras clave:** Sostenibilidad, Gestión Ambiental, Medio Ambiente, Objetivos de Desarrollo Sostenible.

## **El polimorfismo cristalino en la industria: la clave para optimizar el producto**

Diego G. Lamas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> CONICET / Laboratorio de Cristalografía Aplicada – Escuela de Ciencia y Tecnología – Universidad Nacional de San Martín, Campus Miguelete, Edificio Labocluster, Av. 25 de mayo 1169, (1650) San Martín, Provincia de Buenos Aires, Argentina, e-mail: [dlamas@unsam.edu.ar](mailto:dlamas@unsam.edu.ar)

### **Resumen**

Los materiales sólidos presentan propiedades y aplicaciones muy variadas, muchas de las cuales se relacionan fuertemente con el ordenamiento atómico que presenta, tema de estudio de la Cristalografía. Dicho ordenamiento puede establecerse con la técnica de la difracción de rayos X, que permite no sólo identificar compuestos sino también distinguir distintas formas cristalinas o “polimorfos” de un mismo compuesto. El fenómeno de *polimorfismo* aparece en todo tipo de sistemas y es el secreto para responder preguntas tan diferentes como: ¿Por qué el diamante es tan duro y el grafito blando si ambos sólo están constituidos por átomos de carbono? ¿Por qué la biodisponibilidad de un medicamento puede cambiar dramáticamente según el proceso de fabricación? ¿Por qué se blanquea el chocolate? ¿Cómo se controla la reología de sistemas grasos utilizados en cosméticos? ¿Cómo se pueden optimizar las propiedades mecánicas de cerámicos o metales? La respuesta es la misma en todos los casos: se trata de materiales donde aparecen compuestos que presentan el fenómeno de polimorfismo y la optimización de sus propiedades se logra estabilizando la forma cristalina adecuada.

En esta charla abordaremos los principios básicos de la *Cristalografía* y de la técnica de la *Difracción de Rayos X* y veremos ejemplos de polimorfismo aplicado a diversas industrias: farmacéutica, cosmética, de alimentos, cerámica, metalúrgica, etc.

**Palabras clave:** Cristalografía; Difracción de Rayos X; Polimorfismo; Sólidos Cristalinos

## **Evaluación de la calidad de los compost y normativa asociada para su correcto uso agrícola**

C. Paredes<sup>1</sup>, R. Moral<sup>1</sup> y M.A. Bustamante<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente, Universidad Miguel Hernández  
EPS-Orihuela, Ctra. Beniel km 3,2, 03312-Orihuela (Alicante)-España, e-mail:  
[c.paredes@umh.es](mailto:c.paredes@umh.es)

### **Resumen**

Los residuos orgánicos se compostan para estabilizar la materia orgánica, reducir el contenido de humedad, aumentar las concentraciones de nutrientes de las plantas, eliminar patógenos y semillas de malas hierbas y reducir las emisiones de gases de efecto invernadero. Los requisitos para la calidad del compost dependen de su destino final, que incluye agricultura, horticultura, paisajismo urbano y sectores específicos como la agricultura ecológica. Estos requisitos de calidad suelen definirse a través de la legislación de protección del suelo, de elaboración de fertilizantes o por directrices creadas por agencias especializadas. Los criterios que se aplican comúnmente para establecer la calidad de los compost incluyen los siguientes parámetros:

- (1) Materiales iniciales utilizados para la producción del compost
- (2) Límites mínimos cuantitativos de elementos que proporcionan una función de mejora/fertilización del suelo, como el contenido de materia orgánica o el contenido de nutrientes (N y P).
- (3) Límites máximos cuantitativos sobre elementos potencialmente tóxicos para la salud humana o ecotóxicos, tales como metales pesados o contaminantes orgánicos persistentes.
- (4) Límites máximos cuantitativos sobre materiales extraños macroscópicos (por ejemplo, vidrio, plásticos, metales)
- (5) Contenido limitado de patógenos
- (6) Presencia limitada de semillas de malas hierbas
- (7) Estabilidad mínima de la materia orgánica

En este trabajo se definen los parámetros utilizados para establecer la calidad de los compost y se comenta la razón de su empleo. También, se presenta el resultado de un trabajo de revisión de la normativa sobre el empleo agrícola

de los compost en diferentes países, comparándose los criterios de calidad del compost y mostrando las estrategias que se están empleando para reducir los impactos ambientales de los procesos de compostaje y evaluar nuevos enfoques analíticos y microbiológicos para definir la calidad del compost.

**Palabras clave:** legislación, residuos compostables, estabilidad de la materia orgánica, contenido de sustancias peligrosas, higienización.

## **Aplicación de lineamientos de la Evaluación Ambiental de Sitio (Fase I y Fase II) en estaciones de servicio**

L Villacreces<sup>1</sup>, R. Arcos<sup>1</sup>, S. Navas<sup>1</sup> y R. Chávez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> EP PETROECUADOR, Subgerencia de Seguridad, Salud y Ambiente, Jefatura de Restauración Ambiental, Av. 6 de diciembre y Alpallana, Piso 9. e-mail: [luis.villacreces@epetroecuador.com](mailto:luis.villacreces@epetroecuador.com)

### **Resumen**

Por disposición interministerial EP PETROECUADOR debió adquirir, desde el año 2011, 41 estaciones de frontera para poder operar y controlar el abastecimiento y uso de combustible en estas zonas, evitando el tráfico ilegal de combustibles. En dichas estaciones de servicio no se realizó una evaluación ambiental en el momento de la adquisición.

La Evaluación Ambiental de Sitio es un proceso sistemático con determina la existencia de riesgo de contaminación potencial o real en una propiedad. El evaluador analiza las actividades pasadas y actuales que han tenido lugar en el sitio para medir si estas actividades tienen un impacto ambiental en el sitio. Cuando sea necesario, el evaluador ambiental toma muestras del suelo, de agua subterránea y otros elementos como aire, material aislante, etc.) para concluir si el sitio y/o edificio están contaminados o no. La Evaluación Ambiental de Sitio consta de cuatro pasos: Fase I, Fase II, Fase III y Remediación.

En Estaciones de Servicio con mucha más frecuencia, la intrusión de vapor puede provocar la exposición humana a sustancias químicas que forman vapor, como los compuestos orgánicos volátiles, que pueden generar riesgos para la salud después de una exposición continua.

El objetivo de este estudio es aplicar lineamientos de la Evaluación Ambiental de Sitio descrito en guías estándar y otros documentos para evaluar la contaminación y migración de contaminantes al subsuelo y agua subterránea en gasolineras de propiedad actual de EP PETROECUADOR y áreas relacionadas.

Se expone los resultados obtenidos para un caso de estudio (Estación de Servicio Tulcán), que determinó presencia de compuestos orgánicos volátiles y valores de hidrocarburos por sobre la normativa, y por tanto la remoción de 6130 m<sup>3</sup> para su remediación.

**Palabras clave:** Evaluación Ambiental de Sitio, Compuestos orgánicos volátiles, Estaciones de Servicio, Suelo contaminado.

## **Contaminación por metales pesados por la influencia del volcán Tungurahua en la provincia de Chimborazo (Ecuador)**

L. Carrera-Beltrán<sup>1</sup>, V. H. Valverde<sup>1</sup>, I. Gavilanes-Terán<sup>1</sup>, J. Idrovo-Novillo<sup>1</sup>, V. Morales-Cruz<sup>1</sup>, E. Erazo-Macas<sup>1</sup>, C. Paredes<sup>2</sup> y A.A. Carbonell-Barrachina<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo  
EC060155-Riobamba (Chimborazo), Ecuador, e-mail: [lourdes.carrera@esPOCH.edu.ec](mailto:lourdes.carrera@esPOCH.edu.ec)

<sup>2</sup>Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente, Universidad Miguel Hernández  
EPS-Orihuela, Ctra. Beniel Km 3,2, 03312-Orihuela (Alicante)

<sup>3</sup>Departamento de Tecnología Agroalimentaria, Universidad Miguel Hernández  
EPS-Orihuela, Ctra. Beniel km 3,2, 03312-Orihuela (Alicante)

### **Resumen**

El objetivo del presente trabajo fue realizar una valoración social, económica, ambiental y evaluar la contaminación por metales pesados en las provincias de Tungurahua y Chimborazo, por influencia del Volcán Tungurahua. El estudio se inició con la identificación de los puntos de muestreo en las dos Provincias, donde se aplicaron encuestas en los sectores de Yanayacu, Cotaló y Pungal pertenecientes a los cantones Quero, Pelileo y Penipe respectivamente, se incluyeron preguntas relacionadas con la actividad del volcán Tungurahua, y de manera particular con la caída de ceniza, la incidencia de los materiales volcánicos, y el grado de afectación a los habitantes de estos sectores. Se identificaron 10 puntos de muestreo en los tres cantones, donde se realizó la recolección de muestras compuestas de suelos cultivados, así como en suelos no cultivados, y posteriormente se procedió al análisis e interpretación de datos, en las muestras se analizó el contenido de metales pesados (Cd, Cr, Ni y Pb) para lo cual se inició con una digestión ácida asistida por microondas y un posterior análisis por espectrometría de absorción atómica con atomización por llama. Como resultados de las encuestas se estableció que más del 50% de encuestados presenta una edad entre 31 y 50 años, pertenecen al género masculino, se dedica a la agricultura; sobre el 70% de habitantes considera que la mayor amenaza natural en la zona constituye las erupciones volcánicas, y que actualmente vive en una zona de peligro volcánico, siendo la ceniza volcánica el mayor factor de afectación en la zona y como consecuencia existen riesgos para la salud.

Los resultados indicaron que los parámetros físico químicos se encuentran dentro de los límites establecidos por la Normativa Ecuatoriana (Acuerdo Ministerial 097A, 2015) así como por la EPA; los análisis de metales pesados demuestran que en el suelo virgen las concentraciones de Ni superan la

capacidad de amortiguación para este metal ( $19 \text{ mg kg}^{-1}$ ), por lo cual se evidencia que existe contaminación en algunos sectores (Tunguraguila, Chacauco y Guso), y en suelos cultivados de Quinchibana alto. El Cd está presente en la mayoría de muestras de suelo virgen de Penipe, donde sobrepasan el límite permisible ( $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ ). El Pb analizado en los suelos de Pelileo-Benítez, Quinchibana y Yanayacu-Mochapata superan el valor referencial ( $19 \text{ mg kg}^{-1}$ ), y su contenido se asocia con el uso de fertilizantes y agroquímicos (superfosfato y úrea). La conclusión final del estudio es que en la zona de influencia del volcán Tungurahua existe contaminación por metales pesados debido al uso de fertilizantes y agroquímicos.

**Palabras clave:** ceniza volcánica, suelo contaminado, metales pesados



## **Manejo sostenible de los residuos agroindustriales generados en la parroquia de San Andrés**

V.H. Valverde<sup>1</sup>, I. Gavilanes-Terán<sup>1</sup>, J. Idrovo-Novillo<sup>1</sup>, L. Carrera-Beltrán<sup>1</sup>, S. Buri-Tanguila<sup>1</sup>, K. Salazar-García<sup>1</sup>, C. Paredes<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

EC060155-Riobamba (Chimborazo), Ecuador, e-mail: [victor.valverde@esPOCH.edu.ec](mailto:victor.valverde@esPOCH.edu.ec)

<sup>2</sup>Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente, Universidad Miguel Hernández

EPS-Orihuela, Ctra. Beniel Km 3,2, 03312-Orihuela (Alicante)

### **Resumen**

En la región sierra central del Ecuador, se encuentra la parroquia de San Andrés, con la agroindustria y ganadería como las principales actividades económicas. El sector agroindustrial ocupa la mayor parte del área de la parroquia, repartida entre cultivos permanentes y transitorios, pastos y páramos o áreas sin cultivar, y representa el 64% de la economía de la parroquia. Por su parte, la ganadería en San Andrés está marcada por la crianza de ganado bovino, porcino y ovino, así como especies avícolas menores. Las excretas ganaderas no se gestionan de manera adecuada y por su naturaleza contaminan al suelo, fuentes hídricas y generan gases de efecto invernadero. En la parroquia, con la finalidad de mejorar los ingresos procedentes de estas actividades, se buscan cada vez mayores ritmos de producción, se emplean insumos con carácter contaminante y se eleva la tasa de generación de residuos. El objetivo de este estudio fue evaluar las características de los residuos agroindustriales y ganaderos generados en la parroquia de San Andrés, para de esta manera plantear estrategias de gestión que promuevan la sostenibilidad del sector agropecuario de la zona. Se realizaron determinaciones físico-químicas, químicas y biológicas. Los resultados muestran que las características de los residuos generados, los hacen candidatos idóneos para emplearse en técnicas de tratamiento como el compostaje y vermicompostaje, entre otras estrategias de gestión y tratamiento de residuos promuevan la sostenibilidad del sector agropecuario, permitan solucionar problemas ambientales, integren el reciclaje y valorización de los residuos, mejoren la calidad de los productos cultivados, y aseguren el desarrollo de estas actividades a futuro.

**Palabras clave:** Gestión, ganadería, agroindustria, tratamiento, residuos



## **Nanopartículas de alofán para aplicaciones energéticas.**

J. Silva-Yumi<sup>1</sup>, T. Moreno-Romero<sup>2</sup> y O. Balseca Sampedro<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, EC060155,  
Riobamba, Ecuador

e-mail: [jorge.silvay@esPOCH.edu.ec](mailto:jorge.silvay@esPOCH.edu.ec)

<sup>2</sup> Facultad de Mecánica, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, EC060155,  
Riobamba, Ecuador.

### **Resumen**

El uso eficiente de energía es una prioridad en los actuales momentos, los nanorefrigerantes y los biocombustibles con nanopartículas constituyen alternativas para una eficiencia energética. Se presentan los resultados de dos experiencias, la primera enfocada en comparar las curvas de enfriamiento del refrigerante secundario agua-propilenglicol con y sin la presencia de nanopartículas de alofán, la segunda, la comparación del poder calorífico de un biocombustible con y sin nanopartículas, también de alofán. El alofán se sintetizó por el método de coprecipitación a partir de nitrato de aluminio y silicato de sodio, se caracterizó por microscopía electrónica de barrido, espectroscopía de energía dispersiva de rayos X y espectroscopía infrarroja. Para el nanorefrigerante se evaluaron concentraciones de 0.5% en masa de nanopartículas y 15% y 21% en volumen de propilenglicol. Las curvas de enfriamiento se obtuvieron en un Chiller mediante una tarjeta My-DAQ y el software LabView. Los ensayos de poder calorífico para el biocombustible se realizaron en base a la Norma ASTM D-240. La emisión de gases contaminantes se cuantificó utilizando un equipo Testo 340. La microscopía electrónica de barrido mostró la presencia de agregados de nanopartículas, mediante el análisis por espectroscopía de energía dispersiva de rayos X se determinó el predominio de silicio sobre aluminio en la composición, la espectroscopía infrarroja generó el patrón característico de alofán. El análisis de las curvas de enfriamiento evidenció la disminución del tiempo de enfriamiento de 120 minutos con la mezcla de agua-propilenglicol a 80 minutos en presencia de las nanopartículas de alofán. Para el biocombustible se obtuvo un aumento del 2.8% en el poder calorífico al añadir 50 ppm de alofán y de un 2% al añadir 100 ppm respecto a un biodiesel puro, las emisiones de CO en presencia de las nanopartículas se redujeron en 65% mientras las de NOx en 50% en comparación a la combustión de diésel premium.

**Palabras clave:** nanorefrigerante, alofán, biocombustible, poder calorífico, combustión.

## **Hacia la Sostenibilidad con la Bioeconomía Circular y la Biorrefinería de Sub-Productos Agrícolas y Agroindustriales Aplicando Química e Ingeniería Verde: Tres Estudios de Caso en Ecuador**

Lourdes Orejuela Escobar<sup>1, 2, 3</sup>

<sup>1</sup> Universidad San Francisco de Quito, Diego De Robles y Av. Interoceánica, Cumbayá, Quito,

e-mail: [lorejuela@usfq.edu.ec](mailto:lorejuela@usfq.edu.ec)

<sup>2</sup> Instituto de Investigaciones Biológicas y Ambientales, Biosfera, USFQ.

<sup>3</sup> Instituto de Investigaciones Biomédicas, USFQ.

### **Resumen**

Los Objetivos de Desarrollo promulgados por las Naciones Unidas en el 2015, para erradicar la pobreza, proteger el planeta, y asegurar la prosperidad de la sociedad en su conjunto, promueven el uso sostenible de los recursos naturales, sobre todo de los biológicos, fomentando la Bioeconomía. Ecuador es un país agrícola y agroindustrial, estas actividades generan riqueza y bienes y servicios que mejoran nuestra calidad de vida, pero al mismo tiempo generan un gran volumen de residuos y subproductos que actualmente no entran en la cadena de valor e impactan el ambiente. Estos residuos vegetales pueden ser valorizados, mediante la aplicación de la Biorrefinería de Segunda Generación y la Tecnología Cero Residuos. La biomasa residual es sometida a pretratamientos mecánicos, físicos, químicos y biológicos para extraer y aislar componentes químicos valiosos presentes en las células vegetales como polifenoles, carotenoides, ácidos grasos, grasas, entre otros, que presentan actividad biológica y pueden ser incluidos en bioproductos de alto valor agregado con aplicaciones potenciales en las industrias cosméticas, nutracéuticas, farmacéuticas, alimentos funcionales, y aplicaciones biomédicas. Adicionalmente, se puede fraccionar la pared celular vegetal aplicando procesos sostenibles y solventes de última generación como lo solventes eutécticos profundos para obtener sus biopolímeros de reserva y estructurales, tales como almidón, pectina, celulosa, hemicelulosa y lignina, que pueden ser convertidos en materiales avanzados como biopelículas con aplicaciones biomédicas y medioambientales para tratamientos de agua contaminada.

En este trabajo se presentan los resultados de la investigación del Grupo de Ingeniería, Ciencias Aplicadas y Simulación en la biorrefinería del afrecho de

cebada cervecero y la obtención de micro/nanocelulosa; de la semilla de aguacate y la obtención de un colorante natural para alimentos funcionales y de las semillas de mango para obtención de mantequilla de mango, harina, y biofiltros de pepa de mango como ejemplos de valorización de los residuos y subproductos agrícolas y agroindustriales.

**Palabras clave:** Bioeconomía Circular, Biorefinería, Tecnología Cero Desechos, Sostenibilidad, Bioproductos de alto valor agregado y Materiales Avanzados.

**Desarrollo de fibras SPME lab-made a partir de eco-  
materiales (arcilla modificada) revestida en fina película  
por deposición física de vapor.**

J. Fiscal-Ladino<sup>1</sup>, J.J. Lozada-Castro<sup>2</sup>, J.J.  
Rios-Acevedo<sup>3</sup>, D. Montaña-Montoya<sup>4</sup>, E.  
Carasek<sup>5</sup>, P. Richter<sup>6</sup>, A. Pulzara-Mora<sup>7</sup>, M.  
Rosero- Moreano<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en Cromatografía y Técnicas Afines GICTA, Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Caldas, Calle 65 # 26-10, Manizales, Colombia, P.O. 170004, e-mail: [milton.rosero@ucaldas.edu.co](mailto:milton.rosero@ucaldas.edu.co)

<sup>2</sup>Universidad de Nariño, Pasto-Colombia

<sup>3</sup>Universidad Santiago de Cali, Cali-Colombia

<sup>4</sup>Universitaria de Antioquia, Medellín-Colombia

<sup>5</sup>Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-Brazil

<sup>6</sup>Universidad de Chile, Santiago-Chile

<sup>7</sup>Universidad Nacional de Colombia, sede Manizales-Colombia

## **Resumen**

Uno de los desafíos de la química hoy en día es encontrar nuevas técnicas analíticas altamente sensibles y selectivas que puedan detectar compuestos a niveles de trazas en varias matrices (ambientales, forenses, alimentos, etc.). Además, estas nuevas técnicas deben responder a los principios de la química verde, en los que se minimiza el uso de disolventes orgánicos y, a su vez, conducen a una fácil preparación de la muestra y reducen el número de pasos de todo el proceso. Con este fin, se desarrolló una técnica de extracción basada en microextracción en fase sólida, recubriendo una nueva película delgada de arcilla modificada sobre un alambre desnudo de aleación de níquel-titanio mediante deposición física de vapor con pulverización catódica con magnetron de radio frecuencia. Este desarrollo se propone para la extracción en matrices acuosas de 12 plaguicidas organoclorados como moléculas modelo:  $\alpha$ -BHC, lindano, heptacloro, aldrin, epóxido de heptacloro, DDT, dieldrin, endrin,  $\beta$ -sulfato de endosulfan, 4,4'-DDD, aldehído de endrin, DDE, para evaluar la capacidad de extracción y producir así una buena eficiencia de aislamiento de los analitos de interés. Los resultados obtenidos arrojan que se pudo exitosamente recubrir el alambre de níquel-titanio con arcilla modificada depositando una fina película de 800 nm, las micrografías de microscopia electrónica de barrido, los espectros de infrarrojo, rayos X y mediciones del ángulo de contacto demostraron que la película adherida fue modificada exitosamente, goza de propiedades hidrofóbicas y con gran poder de adsorción, adicionalmente con el nuevo dispositivo de película delgada de

arcilla modificada hecho en laboratorio de microextracción en fase sólida en inmersión directa a partir de muestras acuosas fueron exitosos los ensayos de recuperación de los analitos problema y cada proceso se realizó tres veces para evaluar la reproducibilidad y repetibilidad (la desviación estándar relativa fue inferior al 6%). Con un factor de enriquecimiento alto, en términos de límite de detección y límite de cuantificación debido a que la extracción de los analitos se logró en el orden  $\text{sub pg mL}^{-1}$  (0.0011-0.1198), finalmente se obtuvo un porcentaje de recuperación entre 65% -99%. Con este trabajo, se abre una posibilidad real para el uso de eco-adsorbentes como nuevas fases de extracción y en formatos y dispositivos que han sido reconocidos como verdaderas técnicas verdes de extracción.

**Palabras clave:** fina película, arcilla modificada, magnetron sputtering, microextracción en fase sólida, pesticidas organoclorados

## **El compostaje en un entorno de economía circular y cambio climático**

M.A. Bustamante<sup>1</sup>, C. Paredes<sup>1</sup> y R. Moral<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente, Universidad Miguel Hernández de Elche, EPSO, ctra. Beniel Km 3,2, 03312-Orihuela, Alicante (España)  
e-mail: [marian.bustamante@umh.es](mailto:marian.bustamante@umh.es)

### **Resumen**

En un entorno de economía circular, basado en la sostenibilidad de los recursos, el compostaje constituye uno de los principales métodos de tratamiento de los residuos orgánicos, ya que no sólo permite su gestión sino también su valorización, con la obtención del compost, un producto estabilizado, humificado y libre de patógenos y fitotoxinas que puede ser utilizado como enmienda y/o fertilizante orgánico de los suelos sin ningún tipo de riesgo ambiental asociado. Sin embargo, aunque el proceso de compostaje también lleva asociado la emisión a la atmósfera de CO<sub>2</sub> y NH<sub>3</sub>, gases que contribuyen al efecto invernadero, la optimización de las condiciones en las que se realice el proceso permiten minimizar estas emisiones. Adicionalmente, en este escenario, una gestión sostenible del suelo constituye una potencial herramienta de mitigación, al favorecer el secuestro de carbono y la reducción de las emisiones de los gases de efecto invernadero. En este sentido, la incorporación de compost al suelo no sólo mejora las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, sino que también favorece el secuestro de carbono. Por tanto, si se estudia de forma integral todo el sistema de gestión de los residuos orgánicos mediante compostaje y su posterior incorporación en el suelo, se obtiene un balance netamente positivo en la cadena de gestión de los residuos orgánicos, contribuyendo de esta forma a la sostenibilidad medioambiental.

**Palabras clave:** compost, gases de efecto invernadero, cambio climático, mitigación, residuos orgánicos.



## **Nuevos materiales para el tratamiento de muestras medioambientales en línea**

Y. Moliner-Martínez<sup>1</sup>, C. Molins-Legua<sup>1</sup>, R. Herráez-Hernández<sup>1</sup>, N. Jornet-Martínez<sup>1</sup>, P. Campins-Falcó<sup>1</sup>

<sup>1</sup>MINTOTA research group. Departament de Química Analítica, Facultat de Química, Universitat de València C/ Dr. Moliner 50, E46100- Burjassot, Valencia. España. e-mail: [Yolanda.moliner@uv.es](mailto:Yolanda.moliner@uv.es)

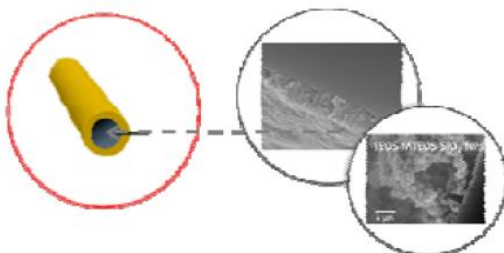
### **Resumen**

En los últimos años se han desarrollado gran variedad de (nano)materiales para su aplicación como fases de extracción en el pretratamiento de muestras. En particular, se ha logrado un progreso sustancial en el desarrollo de nuevas fases para sistemas de tratamiento de muestras en línea, tal como la microextracción en fase sólida en tubo (in-tube SPME). Estas nuevas fases, depositados en las columnas capilares pueden mejorar la baja eficiencia en la extracción que presentan las columnas capilares comerciales y mejorar el rendimiento de extracción de un analito determinado. Entre los diferentes materiales, los recubrimientos basados en nanopartículas (NP) mejoran el rendimiento de in-tube SPME.

En el presente trabajo, se proponen diferentes fases extractantes como recubrimientos alternativos para la determinación de contaminantes emergentes (fármacos y contaminantes de carácter polare) en muestras ambientales. Se han evaluado columnas capilares basadas en TEOS / MTEOS-SiO<sub>2</sub>NP, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SiO<sub>2</sub>, polidimetilsiloxano modificado con NP de carbono (c-CNTs-PDMS) y grafeno-PDMS (GO-PDMS). Se han comparado parámetros como la eficiencia de extracción, precisión y estabilidad con el fin de dilucidar la ventaja potencial de utilizar los nuevos materiales como fases de extracción para aplicaciones medioambientales. Los recubrimientos se han sintetizado e inmovilizado con éxito en la superficie de las columnas capilares, donde los analitos diana han mostrado un comportamiento característico en función de las interacciones que estos nuevos materiales proporcionan.

La precisión capilar-capilar fue satisfactoria (CV <13%). Las eficiencias de extracción de fármacos y triazinas se han mejorado con los capilares de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs y c-CNTs soportados por sílice (EE = 60-100%). Mientras tanto,

las columnas capilares basadas en NPs TEOS / MTEOS-SiO<sub>2</sub>NPs mostraron un alto rendimiento para la mayoría de las triazinas polares (EE = 60-70%).



**Palabras clave:** Cromatografía líquida miniaturizada, microextracción en fase sólida en tubo, muestras medioambientales, (nano)materiales

**Agradecimientos:** Generalitat Valenciana (PROMETEO 2016/109), EU-FEDER y Generalitat Valenciana (IDFEDER/ 2018/049), al Ministerio de España MCIU-AEI EU-FEDER (proyecto CTQ2017-90082-P) por la financiación.



## **Leches fermentadas, oportunidades para innovar**

M. Coronel<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Av. Mariscal Sucre y Mariana de Jesús, Universidad UTE, código postal 170527  
Quito, Ecuador, e-mail: [manuel.coronel@ute.edu.ec](mailto:manuel.coronel@ute.edu.ec)

### **Resumen**

Las leches fermentadas son productos muy antiguos y que se reconocen como saludables desde inicios del siglo XX. Obedecen a la normativas internacionales y locales donde se define la forma de obtenerlas y los microorganismos involucrados, así como las posibles variaciones con agregados no lácteos. Su consumo es relativamente reducido en Ecuador comparado con la región y más aun con países europeos. Existen muchas razones para su consumo, desde su contenido en proteínas y calcio, hasta la presencia de biopéptidos y su calidad sensorial. Los criterios para su clasificación son múltiples (base legal, tipo de microorganismo, aditivos agregados, naturaleza física del producto, entre otros). A partir del análisis de su proceso de elaboración y los factores de calidad que las definen, las leches fermentadas pueden modificarse a través de la adición de ingredientes no lácteos antes o después de la fermentación, la variación de parámetros de proceso o la combinación de microorganismos. En ese sentido, Ecuador por su biodiversidad, ofrece alternativas de innovación.

**Palabras clave:** leche fermentada, agregado no lácteo, calidad, innovación, biodiversidad.

## **Efectos del consumo de *Lupinus mutabilis* Sweet (chochos) en enfermedades cardio- metabólicas**

ME. Baldeón<sup>1</sup>, EB. Muñoz<sup>1</sup>, E. Villacrés<sup>1</sup> y M. Fornasini<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigación Biomédica (CENBIO), Universidad UTE, Sede Occidental, Quito, Ecuador, e-mail: [manuel.baldeon@ute.edu.ec](mailto:manuel.baldeon@ute.edu.ec)

### **Resumen**

La obesidad y las patologías asociadas como el síndrome metabólico, la diabetes mellitus tipo-2 (DM2), y la hipertensión son problemas de salud pública en todo el mundo. El costo social y económico de estas enfermedades, es muy alto. Existe una necesidad urgente de desarrollar estrategias novedosas para prevenir y encontrar nuevas alternativas terapéuticas de bajo costo y culturalmente amigables para tratar la DM2. Varios estudios han demostrado que los péptidos derivados de las proteínas de las leguminosas tienen propiedades metabólicas, como hipoglucemiantes, hipolipemiantes, anticancerígenas, antiinflamatorias y antitrombóticas. Las personas que consumen dietas ricas en leguminosas disminuyen significativamente los niveles de colesterol sérico total en comparación con los grupos de control; Además, los péptidos derivados de leguminosas muestran propiedades inhibitoras de enzimas implicadas en la fisiopatología de la DM2 y enfermedades cardiovasculares como la enzima convertora de angiotensina y la inhibición de la dipeptidil peptidasa IV. Estos estudios demuestran la importancia de las leguminosas en la dieta y su potencial como alimentos funcionales que podrían contribuir a la prevención y tratamiento de enfermedades metabólicas, incluida la DM2. Desde hace varios años, nuestro grupo de investigación ha desarrollado estudios con cultivos andinos para determinar propiedades beneficiosas para la salud en estos alimentos que se pueden aplicar en la prevención y tratamiento de las enfermedades más prevalentes en el Ecuador, incluidas las enfermedades cardio-metabólicas. Se discutirá la evidencia clínica y molecular del uso de la leguminosa *Lupinus mutabilis* Sweet en el tratamiento de la DM2. La evidencia actual indica que el consumo de leguminosas, incluida *L. mutabilis* andina, puede contribuir a la prevención y el tratamiento de la DM2. Es importante educar y promover el consumo de leguminosas por parte de la población.

**Palabras clave:** *Lupinus mutabilis* Sweet, diabetes mellitus tipo-2, gamma conglutina, enfermedades cardiovasculares

## **Degradación bacteriana de lignina: diversidad en los mecanismos de oxidación y metabolismo de la lignina**

R. Granja<sup>1</sup>, F. Persinoti<sup>2</sup> y T. Bugg<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Carrera de Ingeniería Ambiental, Universidad UTE, Av. Mariscal Sucre s/n y Mariana de Jesús, Quito, e-mail: [mhrommelq@gmail.com](mailto:mhrommelq@gmail.com)

<sup>2</sup> Laboratório Nacional de Biorrenováveis (LNBR/CNPEM), Campinas, Brazil.

<sup>3</sup> Department of Chemistry, University of Warwick, Coventry CV4 7AL, UK

### **Resumen**

Aunque en los últimos años se han descubierto varias enzimas bacterianas oxidantes de la lignina, todavía no está claro si las bacterias que degradan la lignina utilizan mecanismos similares para la oxidación de la lignina. Las enzimas más conocidas en este proceso son las lacasas y enzimas tipo peroxidasas. Se ha demostrado que existen lacasas bacterianas capaces de degradar compuestos modelos de lignina y lignina polimérica, dando como resultado ácido vanílico. Estudios estructurales y de actividad muestran que existen las lacasas bacterianas tienen normalmente un menor potencial de reducción, sin embargo, son más estables, y se ha sugerido que su estabilidad se debe a las diferencias estructurales que guardan con las lacasas fúngicas. Por otra parte, las peroxidasas tipo Dyp parecen ser las predominantes en el caso de la degradación bacteriana de lignina. Se ha utilizado el genoma de 13 cepas bacterianas oxidantes de la lignina, para realizar un análisis con el fin de detectar la presencia de enzimas oxidantes de lignina y grupos de genes de degradación aromática que podrían estar involucrados en el metabolismo de la lignina. Se observó que diez genomas bacterianos contienen peroxidasas tipo DyP y diez cepas bacterianas contienen oxidasas de cobre múltiple tipo lacasas, ambas conocidas por tener actividad para la oxidación de la lignina. Solo una cepa carece de ambos tipos de enzimas. Once genomas bacterianos contienen grupos de genes de degradación aromática, de los cuales diez contienen la vía central del  $\beta$ -cetoadipato, con números y tipos variables de grupos de degradación para otros sustratos aromáticos. Esta evidencia sugiere que, al igual que en los hongos, la degradación bacteriana de lignina incluye diversas estrategias metabólicas utilizadas para la oxidación de la lignina, mientras que la vía del  $\beta$ -cetoadipato parece ser la ruta más común para el metabolismo aromático en este tipo de bacterias.

**Palabras clave:** Lignina, bacteria, degradación, enzimas.

# I CONGRESO INTERNACIONAL

## BIOTECNOLOGÍA, AMBIENTE, QUÍMICA Y ALIMENTOS

### ECUADOR - 2020



*En las siguientes páginas  
se muestran las versiones  
completas de los artículos  
que fueron presentados en  
el congreso.*

**Extractos acuosos de hongos enriquecidos con ergotioneina con actividad antioxidante y su efecto en fibroblastos dérmicos humanos irradiados con UV.**  
**Aqueous extracts of ergotioneine enriched fungi with antioxidant activity and its effect on UV irradiated human dermal fibroblastes.**

<sup>1,2</sup>Anabell Del Rocío Urbina-Salazar \*, <sup>1,3</sup>Alberto Renato Inca-Torres, <sup>3</sup>Bryan Anthony Urbina-Salazar, <sup>4</sup>Valeria Fernanda Inca-Torres, <sup>2</sup>Juan Bautista.

<sup>1</sup>Universidad Técnica de Manabí, Instituto de Ciencias Básicas, Portoviejo, Ecuador

<sup>2</sup>Universidad de Sevilla, Facultad de Farmacia, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Sevilla, España

<sup>3</sup>Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias de la Salud, Carrera de Medicina, Ambato, Ecuador

<sup>4</sup>Hospital Básico Baños, Baños, Ecuador

E-mail: \* [gata-any@hotmail.com](mailto:gata-any@hotmail.com)

**Resumen**

La ergotioneina (ERG) tiene aplicaciones potenciales como un aditivo alimentario y como un antioxidante para el tratamiento y/o prevención de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo. En este trabajo estudiamos la naturaleza de la actividad antioxidante e investigamos el efecto de los extractos acuosos de *Agaricus bisporus* enriquecidos con ergotioneina (EAHE-ERG), un producto natural, obtenido mediante digestión enzimática y tecnología de membrana, en respuesta celular inducida por UV, en fibroblastos cultivados. EAHE-ERG suprimió la regulación por incremento de TNF- $\alpha$  mediante radiación UV-B. Además, en fibroblastos expuestos a UV-A, EAHE-ERG suprimió la expresión de proteína de metaloproteínasa-1 de matriz (MMP-1) en casi 50% y redujo la expresión de ARNm de MMP-1. A partir de estos resultados, concluimos que EAHE-ERG puede reducir los efectos antienvjecimiento de la piel después de la irradiación UV mediante la eliminación de  $\cdot O_2$  y  $1O_2$ , y la reducción de las señales de proteasa y actividad inflamatoria.

**Palabras Clave:** *Ergotioneina, Agaricus bisporus, Antioxidante, Nutracéutico, Antiinflamatorio.*



***Abstract***

Ergotioneine (ERG) it has potential applications as a food additive and as an antioxidant for the treatment and / or diseases prevention related to oxidative stress. In this work we study the nature of antioxidant activity and investigate the effect of aqueous extracts of *Agaricus bisporus* enriched with ergotioneine (EAHE-ERG), a natural product, obtained through enzymatic digestion and membrane technology, in cellular response induced by UV, in crops fibroblasts. EAHE-ERG suppressed by the increase of TNF- $\alpha$  by UV-B radiation. Furthermore, in exposed fibroblasts to UV-A, EAHE-ERG suppressed the expression of matrix metalloproteinase-1 protein (MMP-1) in almost 50% and reduced the RNAm expression from MMP-1. From these results, we conclude that EAHE-ERG can reduce anti-aging effects of the skin after UV radiation by removing  $\bullet O_2$  and  $1O_2$ , and the reduction protease signs and inflammatory activity.

***Keywords:*** *Ergotioneine, Agaricus bisporus, Antioxidant, Nutraceutical, Anti-inflammatory.*

### **Introducción**

La ergotioneina (ERG), es un derivado de tiourea de histidina con potentes actividades antioxidantes, es producido por pocos organismos como actinobacterias, cianobacterias y ciertos hongos, entre otros, pero no es sintetizado por plantas y animales. Se ha demostrado que los eucariotas superiores contienen ERG, pero hasta la fecha no se ha informado que estos la biosintetizan (1,2), se cree que las plantas toman la ERG excretada por los hongos del suelo mediante relaciones simbióticas (3,4). La ERG se produce casi exclusivamente a partir de la dieta en humanos, se acumula en varias partes del cuerpo humano como la médula ósea, el hígado, los eritrocitos, los riñones, los líquidos seminales, los ojos y la piel (5), es transportado mediante un transportador específico SLC22A4, la selección natural de dicho transportador implica que la ERG está involucrada en el mantenimiento de la salud o la mitigación de la enfermedad, acumulándose en los sitios de lesión (6,7).

La ERG exhibe aplicaciones potenciales debido a las propiedades antioxidantes que posee como: eliminación de radicales libres y especies reactivas de oxígeno (8) y la quelación de iones metálicos divalentes, en el tratamiento o prevención de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, además que protege a las células del ADN mitocondrial asociado al fotoenvejecimiento (4,9), debido a estos efectos beneficiosos podría representar un alto valor en el mercado mundial de suplementos dietéticos (6).

El fotoenvejecimiento de la piel está relacionado con una combinación de factores intrínsecos y extrínsecos que podrían cambiar los aspectos funcionales y estructurales de la piel, causado por cambios en las expresiones génicas en los fibroblastos dérmicos (10). Además, ha demostrado posibles efectos in vivo de varias enfermedades neurodegenerativas (11), en la lesión por isquemia reperfusión (12), entre otras.

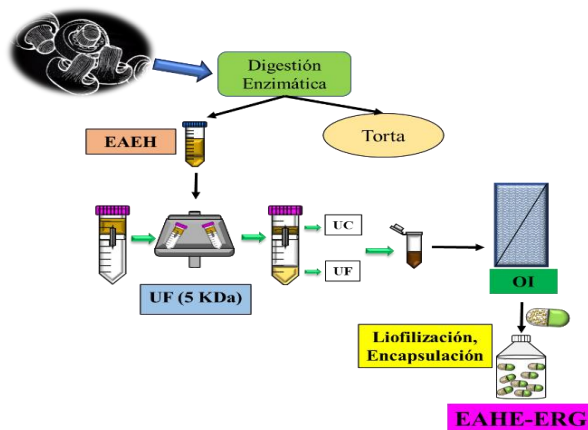
Actualmente, la ERG comercial se sintetiza químicamente, siendo una alternativa sostenible de bajo costo la producción en fábricas de células microbianas (13,14). En un estudio anterior se cuantificó ERG en *Agaricus bisporus* identificando que contienen del 0,20 - 0,31 mg/g,

(15,16), además se evaluó el efecto en extractos naturales de *Agaricus bisporus* observándose que tienen la capacidad de reducir significativamente el contenido de lípidos intracelulares, el tamaño de las gotas de lípidos y el contenido de TG intracelular (17). En este estudio presentamos un producto natural enriquecido en ERG natural en forma de extracto, EAHE-ERG, obtenido de *Agaricus bisporus*, estudiamos la naturaleza de la actividad antioxidante e investigamos su efecto en respuesta celular inducida por UV.

## Materiales y Métodos

### Preparación de EAHE-ERG

Se utilizó como materia prima *A. bisporus*, que se obtuvo del Grupo Riberebro (La Rioja, España). EAHE-ERG se obtuvo siguiendo el procedimiento descrito por Cremades et al., usando enzimas y tecnología de membrana (15). La Figura.1 muestra esquemáticamente el procedimiento.



**Figura. 1. Procedimiento para la extracción de EAHE-ERG.**

### Cultivos celulares

Los fibroblastos humanos primarios se cultivaron en medio DMEM estándar (Invitrogen, Carlsbad, CA, EE. UU.), Suplementado con 10% de suero bovino fetal (Invitrogen, Carlsbad, CA, EE. UU.), 10 mM HEPES, 2 mM L-glutamina y antibióticos (100 U / mL de penicilina, 0.25 µg / mL de sulfato de estreptomicina) y 50 µg / mL de uridina, con



o sin L-ergotioneina 20  $\mu$ M (EAHE-ERG o ERG pura) a 37 °C en 5% de CO<sub>2</sub>.

### ***Irradiación UVB***

Las células confluentes (control y tratadas con EAHE-ERG o ERG pura (L-ergotioneina 20  $\mu$ M)) se expusieron a UVB (300 J / m<sup>2</sup>, bombilla fluorescente TL12 Philips, pico de emisión a 313 nm) a través de solución salina tamponada con fosfato.

### ***Medición de la concentración de ROS intracelular***

La concentración de ROS se midió utilizando el indicador general de estrés oxidativo CM-H<sub>2</sub>DCFDA (derivado de clorometilo de H<sub>2</sub>DCFDA).

### ***Determinación de Ergotioneina por HPLC***

La concentración de ERG se determinó mediante HPLC, siguiendo el método de Dubost et al., (18). Como estándar se usó la L-ergotioneina sintética (OXIS International, Japón).

### ***Ensayo TNF- $\alpha$***

El TNF- $\alpha$  se cuantificó utilizando kits comerciales de ELISA (BD Biosciences, San Diego, CA, EE. UU.)

### ***Ensayo MMP-1***

La expresión de la metaloproteinasa-1 de la matriz (MMP-1) se evaluó mediante análisis de inmunotransferencia (Western Blot) y la actividad se ensayó con un kit de ensayo de actividad MMP-1 (Enzo Life Sciences, Farmingdale, NY, EE. UU.).

### ***Análisis estadístico***

Los datos se expresan como medias  $\pm$  DE (Desviación Estándar) y se analizaron mediante ANOVA unidireccional seguido de la prueba LSD protegida de Fisher para múltiples comparaciones de medias grupales; se considera un valor de P<0.05 estadísticamente significativo.

### Resultados

Se utilizó *A. bisporus* como materia prima, se cuantificó ERG con una concentración de  $0,21 \pm 0,03$  mg/g de ERG/g de peso seco, resultados similares a los obtenidos por Cremades et al., 2015, (15,16) pero en concentraciones más bajas que las encontradas en otros hongos (18). Sin embargo al ser una materia prima que se puede obtener en grandes cantidades representa una fuente importante de ERG con un alto potencial antioxidante. Los resultados de la concentración de ERG se muestran en la Tabla.1, cómo se puede observar la cantidad de ERG varía en cada proceso, obteniéndose EAHE-ERG con una concentración de 175,01 mg, y con un porcentaje de rendimiento del 93,52%, con respecto al producto inicial, cantidad muy significativa de ERG.

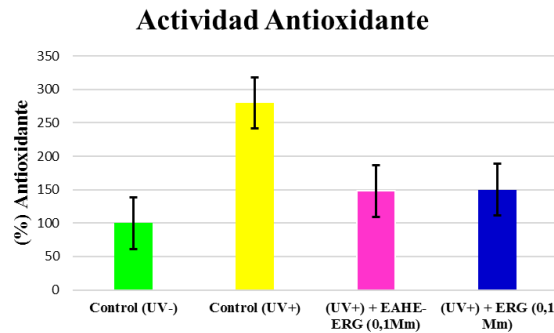
Producto/Proceso	ERG (mg/g)	ERG (mg)
Materia prima	$0,21 \pm 0,03$	239,52
EAH	$0,010 \pm 0,001$	186,57
EAH-UF(5KDa)	$0,0090 \pm 0,0002$	182,80
EAH-OI	$0,375 \pm 0,01$	181,1
EAHE-ERG	$121,52 \pm 4,20$	175,01

Los resultados se expresan como las medias  $\pm$  DE (n = 5) en peso seco.

**Tabla 1. Concentración de ERG en cada proceso.**

### *Efecto protector contra el estrés oxidativo celular*

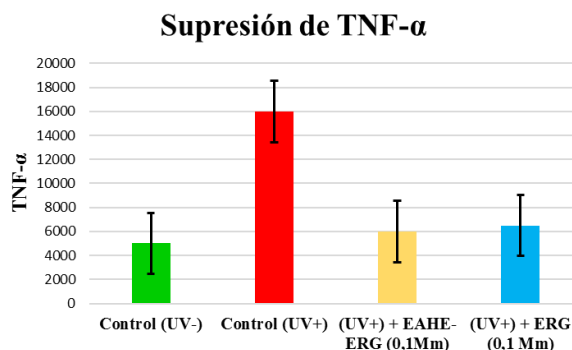
La concentración intracelular de ROS (reactive oxygen species) se midió utilizando el indicador general de estrés oxidativo CM-H<sub>2</sub>DCFDA. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura.2, observándose que EAHE-ERG presenta un alto porcentaje de antioxidante al igual que un extracto con ERG pura, lo que indica que EAHE-ERG puede ser utilizado como depurador de ROS (principalmente superóxido y oxígeno singlete), esto podría atribuirse a la presencia de aminoácidos y péptidos libres que también podrían saciar las ROS.



*Figura. 2. Porcentaje de antioxidante presente en cada muestra.*

### ***Supresión de TNF- $\alpha$***

Los resultados de la Figura.3 muestran claramente que tanto EAHE-ERG como ERG pura, suprimen citocinas proinflamatorias como factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e interleucina 12 (IL-12), las cuales activan la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos y activación de leucocitos inflamatorios, provocados por luz UV. Estos resultados indican que EAHE-ERG en concentraciones de 0,1 mM es suficiente para revertir procesos inflamatorios provocados por la exposición a la luz ultravioleta, y así evitar el fotoenvejecimiento.



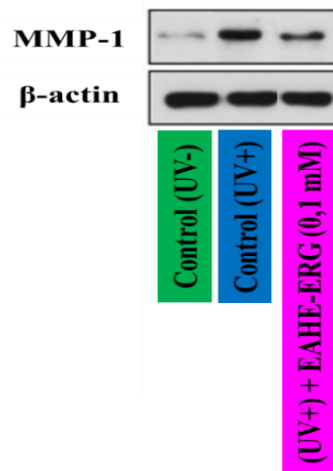
*Figura. 3. Nivel de TNF- $\alpha$  en las muestras.*

### ***Expresión MMP-1***

Las metaloproteinasas de matriz (MMP), desempeñan un papel

importante en muchos procesos fisiológicos normales y también participan en muchos procesos patológicos como la artritis, el cáncer, las enfermedades cardiovasculares y la inflamación. Los resultados de la Figura.4 muestran que la luz UV induce la expresión de MMP-1 y que EAHE-ERG a una concentración de 0,1 mM prácticamente redujo esta expresión en un 50% (resultados similares se obtienen mediante ERG pura, resultados no mostrados).

**Figura. 4. Expresión de MMP-1 en EAHE-ERG.**



## Discusión

Tang et al., fue el primero en estudiar la absorción y distribución de ERG en tejidos de ratones antes y después de la administración oral de ERG pura utilizando LC-MS/MS. Además, investigó la absorción y la farmacocinética de la L-ergotioneina después de la administración oral a humanos observando luego del tratamiento una tendencia decreciente de los biomarcadores de daño oxidativo y que sugiere que la ERG puede funcionar como un antioxidante importante, pero tal vez solo bajo condiciones de estrés oxidativo (19).

Muchos otros estudios in vitro han demostrado la capacidad de ERG para eliminar radicales, modular las respuestas inflamatorias y proteger contra la radiación UV y gamma (20,21). El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto antioxidante de EAHE-ERG observándose que EAHE-ERG presenta un alto porcentaje antioxidante al igual que un extracto de ERG pura preparado a la misma concentración.

Las radiaciones UVA y UVB activan mecanismos inmunosupresores a través de ciertas citocinas, así contribuyen al daño y eventualmente a la carcinogénesis, los rayos UVA tienen un rol protagónico en la capacidad de penetrar los estratos más profundos de la piel, donde se producen los principales cambios del fotoenvejecimiento. La luz UV produce cambios moleculares provocando daño al tejido conectivo dérmico, causando la activación de receptores de factores de crecimiento, citocinas proinflamatorias (IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8) y moléculas de adhesión (ICAM-1) en la superficie de los queratinocitos y fibroblastos (22). El TNF- $\alpha$  regula diversos eventos biológicos fundamentales de las células, como la activación de los leucocitos, la liberación de diversas citocinas y quimiocinas, y la producción de ROS e intermediarios de nitrógeno. El TNF- $\alpha$  es un agente pro-inflamatorio poderoso, liberado rápidamente después del trauma, infección o exposición a LPS y se ha demostrado que es el mediador más abundante en tejidos inflamados, es por eso que se ha tomado como un factor de estudio para comprobar el efecto que ejerce EAHE-ERG sobre los fibroblastos dérmicos humanos irradiados con UV. Nuestros resultados indican que EAHE-ERG suprime la regulación del incremento de TNF- $\alpha$  al igual que un extracto preparado con ERG pura, es decir que actúa como un antioxidante evitando la generación del ROS y por tanto evita los cambios moleculares y estructurales en la piel.

Las MMP, son enzimas secretadas por los fibroblastos y los queratinocitos, interfieren en la síntesis de degradación de los colágenos I y III dérmicos y de las proteínas de la matriz extracelular dérmica. La degradación del colágeno conduce a una acumulación de moléculas de colágeno parcialmente degradadas en la dermis, que alteran la integridad estructural de la piel. La luz UV induce la expresión de MMP-1, estimulando la producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> provocando la inflamación o procesos patológicos como la artritis, el cáncer, las enfermedades cardiovasculares. EAHE-ERG a una concentración de 0,1 mM prácticamente redujo esta expresión en un 50%. La MMP-1 o colagenasa intersticial, es capaz de iniciar la fragmentación del colágeno fibrilar tipo 1, que constituye 90% del colágeno de la piel (23).

### Conclusiones

A partir de estos resultados, concluimos que EAHE-ERG, elimina el ROS generado por la fotosensibilización de tipo I y II y suprime tanto la expresión de TNF- $\alpha$  como la MMP-1 en su nivel de traducción. EAHE-ERG puede reducir los efectos antienvjecimiento de la piel después de la irradiación UV mediante la eliminación de  $\bullet\text{O}_2$  y  $1\text{O}_2$ , y la reducción de las señales de proteasa y actividad inflamatoria. En fibroblastos cultivados, EAHE-ERG suprimió la regulación por incremento de TNF- $\alpha$  mediante radiación UVB y cuando fueron expuestos a UVA, suprimió la expresión de MMP-1 en casi 50%. Debido a que EAHE-ERG posee la capacidad de interferir con la señalización molecular, ha llegado a ser un compuesto natural de gran interés por su potencial como agente terapéutico, y su posible uso como suplemento dietético.

### Agradecimientos

Al Ministerio de Ciencia español e Innovación para el apoyo financiero de este trabajo (Proyecto RTC2015-4039-2), que cuenta con apoyo parcial del FEDER. A la Universidad Técnica de Manabí por permitirnos colaborar con ellos.

### Conflicto de Intereses

Declaro que no existen intereses particulares por parte de los autores o de la entidad científica que pudiesen afectar directa o indirectamente a los resultados.

### Referencias

1. Melville D. B. Ergothioneine. *Vitam. Horm.* 1959; 17: 155–204. DOI: 10.1016/S0083-6729(08)60271-X
2. Halliwell B, Cheah IK, Tang RMY. Ergothioneine - a diet-derived antioxidant with therapeutic potential. *FEBS Lett.* 2018; 592: 3357–3366. DOI: 10.1002/1873-3468.13123
3. Park EJ, Lee WY, Kim ST, Ahn JK, Bae EK. Ergothioneine accumulation in a medicinal plant *Gastrodia elata*. *J. Med. Plants Res.* 2010; 4: 1141–1147. DOI: 10.5897/JMPR10.184
4. Guo Q-L, Lin S, Wang YN, Zhu CG, Xu CB, Shi JG. Gastrolatathioneine, an unusual ergothioneine derivative from an aqueous extract of “tian ma”: a natural product co-produced by plant and symbiotic fungus. *Chin. Chem. Lett.* 2016; 27: 1577–1581. DOI: 10.1016/j.ccllet.2016.06.040



5. Cheah IK, Halliwell B. Ergothioneine; antioxidant potential, physiological function and role in disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 2012; 1822(5):784–793. DOI: 10.1016/j.bbadis.2011.09.017
6. Tschirka J, Kreisor M, Betz J, Gründemann D. Substrate selectivity check of the ergothioneine transporter. *Drug Metab. Dispos.* 2018; 46: 779–785. DOI: 10.1124/dmd.118.080440
7. Cheah IK, Tang RMY, Yew TSZ, Lim KHC, Halliwell B. Administration of pure ergothioneine to healthy human subjects: uptake, metabolism, and effects on biomarkers of oxidative damage and inflammation. *Antioxid. Redox Signal*. 2017; 26: 193–206. DOI: 10.1089/ars.2016.6778
8. Helfrich YR, Sachs DL & Voorhees JJ. Overview of skin aging and photoaging. *Dermatology nursing*. 2008; 20(3): 177.
9. Ta P, Buchmeier N, Newton GL, Rawat M, Fahey RC. Organic hydroperoxide resistance protein and ergothioneine compensate for loss of mycothiol in *Mycobacterium smegmatis* mutants. *J. Bacteriol.* 2011; 193: 1981–1990. DOI: 10.1128/JB.01402-10
10. Fisher GJ, Wang Z, Datta SC, Varani J, Kang S, Voorhees JJ. Pathophysiology of premature skin aging induced by ultraviolet light. *The New England Journal of Medicine*. 1997; 337(20):1419–1429. DOI: 10.1056/NEJM199711133372003.
11. Yang NC, Lin HC, Wu JH, Ou HC, Chai YC, Tseng CY, et al. Ergothioneine protects against neuronal injury induced by  $\beta$ -amyloid in mice. *Food Chem. Toxicol.* 2012; 50: 3902–3911. DOI: 10.1016/j.fct.2012.08.021
12. Sakrak Ö, Kerem M, Bedirli A, Pasaoglu H, Alper M, Ofluoglu E, et al. Ergothioneine prevents acute lung injury in mesenteric ischemia and reperfusion injury in rats. *J. Crit. Care*. 2008; 23: 268–269. DOI: 10.1016/j.jcrc.2008.03.021
13. Fujitani Y, Alamgir KM, Tani A. Ergothioneine production using *Methylobacterium* species, yeast, and fungi. *J. Biosci. Bioeng.* 2018; 126, 715–722. DOI: 10.1016/j.jbiosc.2018.05.021
14. Takusagawa S, Satoh Y, Ohtsu I, Dairi T. Ergothioneine production with *Aspergillus oryzae*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2019; 83: 181–184. DOI: 10.1080/09168451.2018.152721
15. Cremades O, Díaz-Herrero MM, Carbonero-Aguilar P, Gutierrez-Gil JF, Fontiveros E, et al. White button mushroom ergothioneine aqueous extracts obtained by the application of enzymes and membrane technology. *Food Bioscience*. 2015; 10: 42-47. DOI: 10.1016/j.fbio.2015.01.001
16. Inca-Torres AR. Valorización de subproductos de la industria de hongos comestibles. Aplicación para obtener productos de alto valor agregado. 2019. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla, Sevilla, España.
17. Carbonero-Aguilar P, Gallego P, Falcón-García G, Cremades O, Inca-Torres A, Urbina-Salazar A, et al. Ergothioneine Rich *Agaricus Bisporus* Extracts Decreases Lipid Accumulation Induced By Oleic Acid In Hepg2 Cells: Possible Implications In The Treatment Of Nonalcoholic Liver Fatty Disease. *J Food Sci Nutr.* 2019; 5: 049. DOI: 10.24966/FSN-1076/100049

18. Dubost NJ, Beelm RB, Peterson D & Royse DJ. Identification and quantification of ergothioneine in cultivated mushrooms using liquid chromatography mass spectroscopy. *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 2006; 8: 215-222. DOI: 10.1615 / IntJMedMushr.v8.i3.30
19. Tang R, Cheah IK, Yew T & Halliwell B. Distribution and accumulation of dietary ergothioneine and its metabolites in mouse tissues. *Scientific reports*. 2018; 8(1): 1601. DOI: org/10.1038/s41598-018-20021-z
20. Motohashi N, Mori I, Sugiura Y, Tanaka H. Radioprotective effect of ergothioneine on gamma-irradiation of metmyoglobin: comparison with cysteine on sulfmyoglobin-formation. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1977; 25:2516–2523. DOI: 10.1248/cpb.25.2516.
21. Hartman PE, Hartman Z, Citardi MJ. Ergothioneine, histidine, and two naturally occurring histidine dipeptides as radioprotectors against gamma-irradiation inactivation of bacteriophages T4 and P22. *Radiat Res*. 1988; 114: 319–330. DOI: 10.2307/3577228
22. Sánchez-Saldaña L, Lanchipa P, Pancorbo J, Regis A, & Sánchez E. Fotoprotectores tópicos. *Revista Peruana de Dermatología*. 2002; 12(2).
23. Morita A, Grewe M, Grether-Beck S, Olaizola-Horn S, Krutmann J. Induction of proinflammatory cytokines in human epidermoid carcinoma cells by in vitro ultraviolet A1 irradiation. *Photochem Photobiol*. 1997;65(4):630-635. DOI:10.1111/j.1751-1097.1997.tb01904.x



**Preparación de quitina y nanoquitina a partir de subproductos de hongos comestibles (*Agaricus Bisporus*) y cangrejo de río (*Procambarus Clarkii*).**

**preparation of chitin and nanochitin from edible mushroom byproducts (*Agaricus Bisporus*) and crawfish (*Procambarus Clarkii*).**

<sup>1,2</sup> Alberto Renato Inca-Torres \*, <sup>2,3</sup> Anabell Del Rocío Urbina-Salazar, <sup>4</sup> Valeria Fernanda Inca-Torres, <sup>1</sup> Bryan Anthony Urbina-Salazar, <sup>3</sup> Juan Bautista.

<sup>1</sup> Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias de la Salud, Carrera de Medicina, Ambato, Ecuador

<sup>2</sup> Universidad Técnica de Manabí, Instituto de Ciencias Básicas, Portoviejo, Ecuador

<sup>3</sup> Universidad de Sevilla, Facultad de Farmacia, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Sevilla, España

<sup>4</sup> Hospital Básico Baños, Baños, Ecuador

E-mail: \* [creny\\_11@hotmail.com](mailto:creny_11@hotmail.com)

**Resumen**

Los procesos de producción de quitina implican tratamientos altamente contaminantes, en estudios actuales se ha demostrado que la utilización de métodos biológicos dieron mejores resultados porque preserva la estructura de la quitina. En este trabajo se obtuvo quitina tanto de *Agaricus bisporus* como de *Procambarus clarkii* siguiendo procedimientos alternativos amigables con el medio ambiente, mediante un proceso secuencial basado en el uso de proteasas, glucanasas. La transformación de microfibrillas en nanofibras se logró disolviendo las regiones amorfas seguido de la ruptura ácida. La concentración de quitina determinada como N-acetil-glucosamina es de  $83 \pm 1.8\%$  y  $80 \pm 2.4\%$ , para *Agaricus bisporus* y *Procambarus clarkii* respectivamente, siendo una quitina de buena calidad, similar a la disponible comercialmente. Finalmente se obtuvo nanofibras de quitina altamente uniformes con un ancho de aproximadamente 8 nm que aún mantenían sus estructuras químicas y cristalinas originales. El producto puede ser utilizado para aplicaciones industriales en farmacia, cosmética, agricultura y tratamientos de aguas residuales.

**Palabras Clave:** *Subproducto de champiñón · Fracción de Quitina · Agaricus bisporus · Nanoquitina · Procambarus clarkii.*

**Abstract**

Chitin production processes involve highly polluting treatments, current studies have shown the use of biological methods gave better results because it preserves chitin structure. In this work, chitin was obtained from *Agaricus bisporus* and *Procambarus clarkii* following friendly environmental alternative procedures, through a sequential process based on the use of proteases, glucanases. Transformation of microfibrils into nanofibers was accomplished dissolving amorphous regions followed by acid disruption.

The chitin concentration determined as N-acetyl glucosamine is  $83 \pm 1.8\%$  and  $80 \pm 2.4\%$ , for *Agaricus bisporus* and *Procambarus clarkii* respectively, being a good quality chitin, similar to the commercially available one. Finally, highly uniform, approximately 8 nanometer-wide chitin nanofibers were obtained, which still maintained their original chemical and crystalline structures. The product can be used for industrial applications in pharmacy, cosmetics, agriculture and wastewater treatment.

**Keywords:** *Byproduct of mushroom · Fraction of chitin · Agaricus bisporus · Nanochitin · Procambarus clarkii.*

### **Introducción**

La pared de los hongos, el exoesqueleto e intestino de los insectos y exoesqueleto de crustáceos está constituido por un compuesto nanoestructurado basado principalmente en microfibrillas de quitina. La quitina es un polisacárido cristalino de alto peso molecular, esta estructura al hidratarse forma un compuesto duro, fuerte y resistente. El exoesqueleto de los crustáceos además de estar constituido por quitina, contiene partículas de carbonato de calcio y proteínas (1), y en el caso de los hongos están constituidos por quitina que se presenta en forma microfibrilar unida a glucanos, formando de esta manera un complejo fibrilar insoluble en álcali (2). La quitina tiene propiedades únicas que permiten su uso en una amplia gama de aplicaciones en diferentes áreas (biotecnología, medicina, farmacia, agricultura, etc.). Enormes cantidades de residuos de champiñón y cangrejo de río son desechadas por las grandes industrias del procesamiento ocasionando contaminación al medio ambiente, es por ello que su reutilización sería una buena alternativa (3-6). La quitina de los crustáceos es de uso frecuente, sin embargo, la presencia del mineral dificulta el proceso de extracción y los métodos tradicionales para la preparación comercial de este tipo de quitina son altamente contaminantes (7).

La transformación de microfibrillas en nanocristales/nanofibras se puede lograr disolviendo las regiones amorfas seguido de una ruptura ácida, y debido a sus innumerables propiedades pueden ser utilizadas en la industria médico-farmacéutica y en la industria alimentaria para combatir la actividad antifúngica (8-11), debido a que es biocompatible, biodegradable y no es tóxica, etc (12). En este trabajo se describen procedimientos biotecnológicos amigables con el medio ambiente para la preparación de quitina y nanoquitina a partir de estos subproductos. Los productos obtenidos poseen numerosas aplicaciones prometedoras en diferentes industrias.

## **Materiales y Métodos**

### ***Preparación de la Materia Prima:***

Se utilizaron subproductos procedentes de la industria del champiñón (*Agaricus bisporus*) (TCH; Tallos de Champiñón) y subproductos procedentes de la industria del procesamiento del cangrejo de río (*Procambarus clarkii*) (C; Cangrejo), constituido fundamentalmente por el cefalotórax y el exoesqueleto de las colas, estos subproductos fueron secados, molidos y tamizados obteniendo un polvo fino al que se les denominó HTCH; Harina de Tallos de Champiñón y HC; Harina de Cangrejo, que se usó como material de partida, En el caso de los subproductos de cangrejo estos fueron previamente desmineralizados, mediante un método basado en la producción *in situ* de ácido/fermentación láctica (13).

### ***Preparación de la Quitina:***

Se utilizó un procedimiento secuencial mediante un tratamiento enzimático y posteriormente un tratamiento térmico. La desproteínización se llevó a cabo mediante un tratamiento enzimático con proteasas a pH 8,5 y 55 °C con baja agitación (100 rpm) usando una relación E/S de 0,01. Las proteasas utilizadas han sido obtenidas mediante procesos biotecnológicos utilizando como materia prima lodos de depuradora crecidos con *B. licheniformes* (14).

### ***Caracterización de la Quitina:***

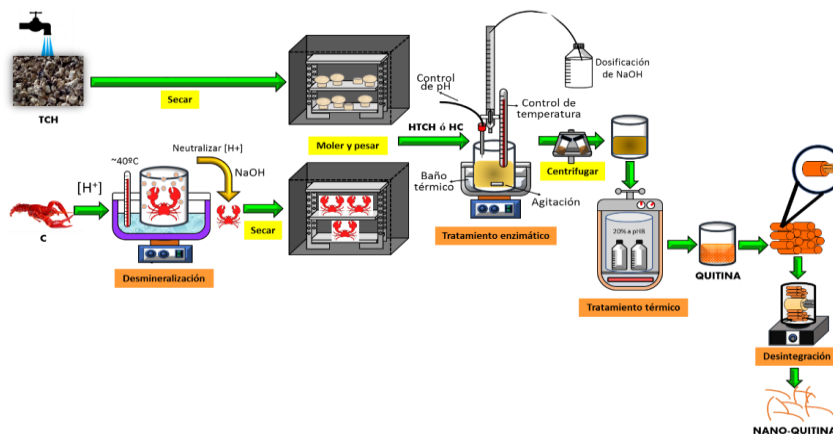
El porcentaje de quitina en base seca se determinó gravimétricamente después de la desproteínización (15), el contenido en hidratos de carbono totales se determinó mediante el método colorimétrico de Dubois, usando ácido sulfúrico-fenol (16) y el nitrógeno total (Nt) se determinó mediante el método Kjeldahl de acuerdo con el procedimiento establecido por la A.O.A.C. 1995 (17), en un equipo automático Kjeltect™ 840 (Foss Iberica S.A., Barcelona) equipado con digestor y destilador.

### ***Análisis Infrarrojo:***

Los espectros infrarrojos de las muestras se registraron usando pellets de bromuro de potasio con un espectrómetro FT-IR (FTIR 8300, Shimadzu).

## ***Preparación de Nanofibras de Quitina:***

La preparación de nanofibras de quitina se llevó a cabo desintegrando los agregados de quitina mediante un proceso de molienda en una trituradora de tipo húmedo, generando suspensión de gel de quitina. La desintegración se logró debido a una alta relación superficie-volumen.



**Figura 1. Esquema del procesamiento de quitina y nanoquitina.**

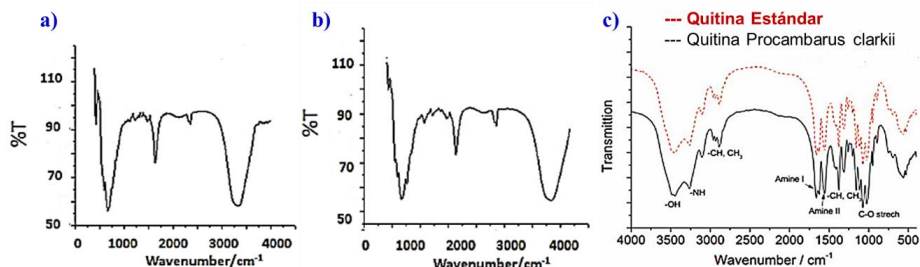
## **Resultados**

Por lo general, los procesos de producción de quitina implican tratamientos altamente contaminantes, en este trabajo se obtuvo quitina tanto de *Agaricus bisporus* como de *Procambarus clarkii* mediante procedimientos alternativos amigables con el medio ambiente, para este último se utilizó un procedimiento previo para su desmineralización mediante un proceso fermentación "in situ" del ácido láctico (13).

Se obtuvo fracciones de quitina de los dos subproductos siguiendo el procedimiento descrito en la Figura 1. La quitina cruda obtenida por estos procesos y una dilución 1:5 de hipoclorito en pasos sucesivos de 6 h a temperatura ambiente, dio una quitina de buena calidad, con una concentración del  $83 \pm 1.8\%$  y del  $80 \pm 2.4\%$  para *Agaricus bisporus* y *Procambarus clarkii* respectivamente, obteniéndose una quitina muy similar a una quitina estandar.

Estos resultados han sido comprobados mediante el análisis infrarrojo

frente a una quitina comercial. Como se puede observar en la Figura 2 (a, b y c) los espectros infrarrojos muestran que la quitina obtenida mediante procesos biotecnológicos es muy similar a una quitina estándar.



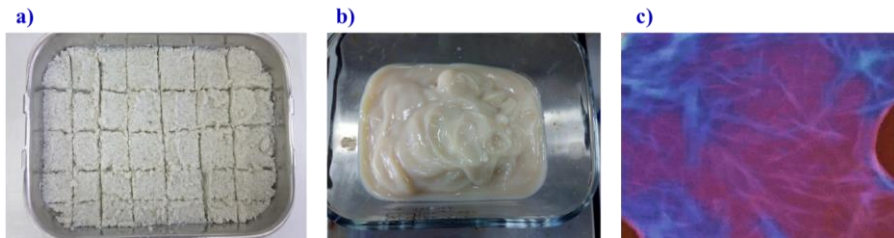
**Figura 2. Espectros FTIR de quitina obtenidos de a) Quitina estándar, b) Quitina de *Agaricus bisporus*, c) Quitina obtenida de *Procambarus clarkii*.**

Durante el primer tratamiento en la preparación de la quitina se obtuvieron una serie de sustancias solubles como péptidos, oligopéptidos, aminoácidos, y en la parte insoluble quitina-glucanos en el caso de *Agaricus bisporus* y quitina cruda con trazas de CO<sub>3</sub>Ca que no han sido eliminadas totalmente durante la desmineralización en el caso de *Procambarus clarkii*. Al realizar el segundo tratamiento logramos extraer la quitina de la parte soluble y otros compuestos insolubles también de interés industrial. La separación del complejo quitina-glucano se lo realizó mediante digestión enzimática con una mezcla de  $\alpha$ -,  $\beta$ -glucanasas usando una relación E/S de 0,02, obteniéndose una parte soluble que contiene oligosacáridos, disacáridos y monosacáridos y la parte insoluble constituida por quitina solamente. Esta quitina al ser un polímero natural es biocompatible y biodegradable en el cuerpo, y puede ser utilizada para aplicaciones biomédicas y farmacéuticas, además puede ser utilizada como fuente de fermentación para la producción de quitinasas y/o como sustrato para la producción de quito-oligosacáridos con actividad inductora (5).

A partir de la quitina obtenida, y después de un ciclo de tratamiento con un molinillo de tipo húmedo se logró obtener fibras uniformes de quitina con un ancho de aproximadamente 8 nm, manteniendo su estructura química y cristalina original. (10, 18-20). El desafío de este trabajo fue obtener nanofibras de quitina de pequeño diámetro y bajo



contenido de proteínas. La longitud y el ancho de las nanofibras de acuerdo a la distribución estructural están relacionadas con la cantidad de proteína que se encuentra restante, es por esto que la disminución del contenido de proteínas permitió obtener una fracción mayor de fibrillas de quitina de menor diámetro y a su vez más cortas, siendo estas predominantes en las muestras. En la Figura 3 se muestra las nanofibras de quitina obtenidas.



**Figura 3. a) Quitina b) Nanofibras de quitina, b) Nanofibras de quitina observadas al microscopio.**

En la Tabla 1 se muestran los resultados obtenidos de los tratamientos realizados para la extracción de proteínas, como se observa a medida que cambia el proceso y el tiempo, el porcentaje de proteínas extraídas es mayor, quedando en la muestra menor cantidad de proteína permitiendo una mayor fracción de nanofibras de quitina con un diámetro menor.

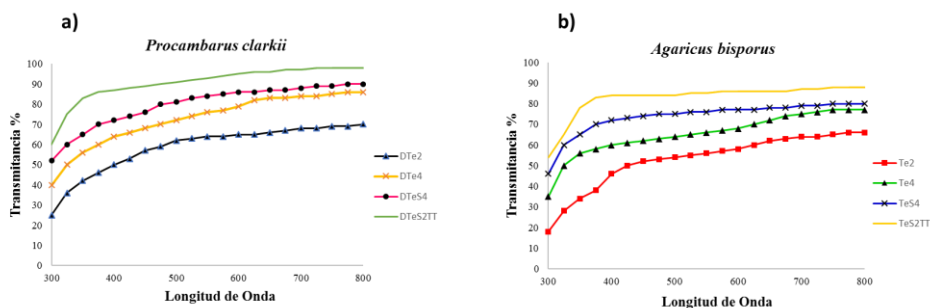
	<b>Tratamiento</b>	<b>% Proteína Extraído</b>
PST	<i>Procambarus clarkii</i> Sin Tratamiento	31,5±2,5#
DTe2	Desmineralización + Tratamiento enzimático de 2 horas	40,5±0,8#
DTe4	Desmineralización + Tratamiento enzimático de 4 horas	54,7±1,3#
DTeS4	Desmineralización + Tratamiento enzimático secuencial de 4 horas	77,2±1,6#
DTeS2TT	Desmineralización + Tratamiento enzimático secuencial de 2 horas +	83,9±1,8#

	Tratamiento térmico	
AST	<i>Agaricus bisporus</i> Sin Tratamiento	28,6±1,7 <sup>§</sup>
Te2	Tratamiento enzimático de 2 horas	41,3±1,6\$
Te4	Tratamiento enzimático de 4 horas	49,4±2,0\$
TeS4	Tratamiento enzimático secuencial de 4 horas	76,3±3,1\$
TeS2TT	Tratamiento enzimático secuencial de 2 horas + Tratamiento térmico	81,4±3,3\$

<sup>§</sup>factor 5,45 para *A. bisporus*; #factor 6,24 para *P. clarkii*.

**Tabla 1. Cantidad de proteína extraída en cada proceso.**

En la Figura 4 se puede observar que en las muestras donde mayor cantidad de proteínas se logró extraer, la transmitancia óptica es más alta, lo que indica que la transmitancia depende del diámetro de las nanofibras suspendidas (21). Los mejores resultados se obtuvieron para DTeS2TT y TeS2TT.



**Figura 4. Transmitancia óptica de Nanofibras de quitina, a) *Procamburus clarkii*, b) *Agaricus bisporus*.**

## Discusión

Como se ha mencionado anteriormente la extracción de quitina mediante tratamientos químicos tiene muchos inconvenientes principalmente el impacto sobre el medio ambiente debido a las sustancias químicas utilizadas durante el proceso, además que daña las propiedades fisicoquímicas de la quitina, es por ello que actualmente se está investigando la aplicación de enzimas y microorganismos para la extracción de quitina. Khanafari et al, estudiaron la extracción de quitina de los caparazones de camarones utilizando métodos químicos y biológicos, sus resultados indicaron que el método biológico (utilizando microorganismos) fue mejor que el químico porque conserva la

estructura de la quitina (22). Bustos y Healy también demostraron que la quitina obtenida de las cáscaras de camarones con diversos microorganismos proteolíticos tiene mayores pesos moleculares en comparación con la quitina de mariscos preparada químicamente. La mayoría de estudios recientes demuestran que los métodos biológicos presentan mayores ventajas sobre los métodos químicos, el método descrito en el presente estudio comprende un método biológico que ofrece una alta reproducibilidad, una manipulación más simple, un menor consumo de sustancias químicas y por lo tanto un menor aporte de energía, para la desproteínización se utilizó proteasas obtenidas de *Bacillus licheniformis* debido a que presenta algunas ventajas como disminuir los costos del proceso, preservar el medio ambiente y además que el hidrolizado que se obtiene es una buena fuente de aminoácidos esenciales en aplicaciones alimentarias. Teniendo en cuenta que este método no permite la extracción de una quitina netamente pura, es necesario un procedimiento adicional de purificación para ser aplicado en la industria médico-farmacéutica (23), debido a que pueden ser utilizados para la liberación de fármacos, en la ingeniería de tejidos y el vendaje para el cuidado de heridas, al ser un polímero natural, biocompatible, no tóxico, no alergénico y biodegradable en el cuerpo. Además, se usa como excipiente y vehículo de drogas en forma de película, gel o polvo para aplicaciones que involucran mucoadhesividad (24).

Los nanocristales de  $\alpha$ -quitina poseen un diámetro de 8-10 nm, que corresponde al resultado obtenido en este estudio, se podría obtener un menor diámetro y a su vez una longitud más corta si durante la preparación de la quitina en lugar de realizar una hidrólisis simple se realizara una hidrólisis secuencial con el fin de extraer mayor cantidad de proteínas. El producto obtenido se puede utilizar para aplicaciones industriales en farmacia, cosmética, nuevos ingredientes de alimentos funcionales, agricultura, tratamientos de aguas residuales. Las nanofibras obtenidas podrían constituir como un medicamento nuevo o alimento funcional (25).

### **Conclusiones**

Este estudio presenta un método favorable con el medio ambiente para la obtención de quitina y nanoquitina. La concentración de quitina cruda obtenida, determinada como N-acetil-glucosamina, fue de

aproximadamente el 80% tanto de *Agaricus bisporus* como de *Procambarus clarkii* y muy similar a la disponible comercialmente. Se obtuvieron nanofibras de quitina uniformes con un ancho de aproximadamente 8 nm, que aún mantienen sus estructuras químicas y cristalinas originales, la funcionalización de estas nanofibras permite su uso en diferentes materiales y compuestos, dentro de la industria farmacéutica, cosmética, agricultura y tratamientos de aguas residuales.

### **Agradecimientos**

Agradecemos al Ministerio de Ciencia español e Innovación para el apoyo financiero de este trabajo (Proyecto RTC2015-4039-2), que cuenta con apoyo financiero parcial del FEDER fondos de la Unión Europea.

### **Conflicto de intereses**

Declaro que no existen intereses particulares por parte de los autores o de la entidad científica que pudiesen afectar directa o indirectamente a los resultados.

### **Referencias**

1. Raabe D, Sachs C & Romano P. J. A. M. The crustacean exoskeleton as an example of a structurally and mechanically graded biological nanocomposite material. *Acta Materialia*. 2005; 53 (15): 4281-4292. <https://doi.org/10.1016/j.actamat.2005.05.027>
2. García Mendoza C, Sanchez E & Novaes-Ledieu M. Differences in microfibrils in the walls of *Agaricus bisporus* secondary mycelium. *FEMS Microbiol Lett* 44. 1987; 161-165. doi/10.1111/j.1574-6968.1987.tb02261.x
3. Ifuku S, Nomura R, Morimoto M & Saimoto H. Preparation of chitin nanofibers from mushrooms. *Materials*. 2011; 4(8): 1417-1425.
4. Muzzarelli RA, El Mehtedi M, Mattioli-Belmonte M. Emerging biomedical applications of nano-chitins and nano-chitosans obtained via advanced eco-friendly technologies from marine resources. *Marine Drugs*. 2014; 12(11): 5468-5502. DOI: 10.3390/md12115468.
5. Urbina-Salazar A, Inca-Torres A R, Falcón-García G, Carbonero-Aguilar P, Rodríguez-Morgado B, del Campo J. A, et al. Chitinase Production by *Trichoderma harzianum* Grown on a Chitin-Rich Mushroom Byproduct Formulated Medium. *Waste and Biomass Valorization*. 2018; 10(10): 2915-2923. DOI: [org/10.1007/s12649-018-0328-4](https://doi.org/10.1007/s12649-018-0328-4).

6. Urbina-Salazar A. Producción de quitinasas a partir de subproductos de la industria alimentaria: Aplicación a los Hongos comestibles y Crustáceos. 2019. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla. Sevilla, España.
7. Lopes C, Antelo L, Franco-Uría A, Alonso A, Perez-Martín R. Chitin production from crustacean biomass: Sustainability assessment of chemical and enzymatic processes. *Journal of Cleaner Production*. 2017; 1-12. DOI: [org/10.1016/j.jclepro.2017.01.082](https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.01.082)
8. Salaberria A M, Diaz R H, Labidi J & Fernandes S C. Role of chitin nanocrystals and nanofibers on physical, mechanical and functional properties in thermoplastic starch films. *Food Hydrocolloids*. 2015; 46: 93-102. DOI: [org/10.1016/j.foodhyd.2014.12.016](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.12.016)
9. Xia Y, Yang P, Sun Y, Wu Y, Mayers B, Gates B. et al. One-dimensional nanostructures: synthesis, characterization, and applications. *Advanced materials*. 2003; 15(5): 353-389. DOI: [org/10.1002/adma.200390087](https://doi.org/10.1002/adma.200390087)
10. Li, D., & Xia, Y. Electrospinning of nanofibers: reinventing the wheel?. *Advanced materials*. 2004. 16(14), 1151-1170. DOI: [org/10.1002/adma.200400719](https://doi.org/10.1002/adma.200400719)
11. Lopez O, Garcia M A, Villar M A, Gentili A, Rodriguez M S & Albertengo L. Thermo-compression of biodegradable thermoplastic corn starch films containing chitin and chitosan. *LWT-Food Science and Technology*. 2014; 57(1): 106-115. DOI: [org/10.1016/j.lwt.2014.01.024](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.01.024)
12. Gopalan Nair K & Dufresne A. Crab shell chitin whisker reinforced natural rubber nanocomposites. 1. Processing and swelling behavior. *Biomacromolecules*. 2003; 4(3): 657-665. DOI: [org/10.1021/bm020127b](https://doi.org/10.1021/bm020127b)
13. Bautista J, Jover M, Gutierrez J F, Corpas R, Cremades O, Fontiveros E. et al. Preparation of crayfish chitin by *in situ* lactic acid production. *Process Biochemistry*. 2001; 37(3): 229-234. DOI: [org/10.1016/S0032-9592\(01\)00202-3](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(01)00202-3)
14. Inca-Torres A.R, Urbina-Salazar A.R, Falcón-García G, Carbonero-Aguilar P, Rodríguez-Morgado B, Parrado J, et al. Hydrolytic enzymes production by *Bacillus licheniformis* growth on fermentation media formulated with sewage sludge. *Journal of Biotech Research*. 2018; 9: 14-26.
15. Carroad P, Tom R. Bioconversion of Shellfish Chitin Wastes: Process. Conception and Selection of Microorganisms. *Journal of Food Science*. 1978; 43: 1158-1161. DOI: [org/10.1111/j.1365-2621.1978.tb15259.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1978.tb15259.x)
16. Dubois M, Gilles K A, Hamilton J K, Rebers P T & Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*. 1956; 28(3): 350-356
17. AOAC. Official Methods of Analysis, 13th ed.; Association of Official Analytical Chemists: Washington, DC.1995.
18. Michalenko G O, Hohl H R & Rast D. Chemistry and architecture of the mycelial wall of *Agaricus bisporus*. *Microbiology*. 1976; 92(2): 251-262. DOI: [org/10.1099/00221287-92-2-251](https://doi.org/10.1099/00221287-92-2-251)
19. Zivanovic S, Buescher R & Kim S K. Mushroom texture, cell wall composition, color, and ultrastructure as affected by pH and temperature. *Journal of Food*



- Science. 2003; 68(5): 1860-1865. DOI: org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb12343.x
20. Ivshina T N, Artamonova S D, Ivshin V P & Sharnina F F. Isolation of the chitin-glucan complex from the fruiting bodies of mycothallus. Applied biochemistry and microbiology. 2009; 45(3): 313-318. DOI: org/10.1134/S0003683809030132
  21. Fukuzumi H, Saito T, Iwata T, Kumamoto Y, & Isogai A. Transparent and high gas barrier films of cellulose nanofibers prepared by TEMPO-mediated oxidation. Biomacromolecules. 2009; 10(1), 162-165. DOI: org/10.1021/bm801065u
  22. Khanafari A, Marandi Reza y Sanati S. Recovery of chitin and chitosan from shrimp waste by chemical and microbial methods. 2008; (5); 19-24
  23. Younes I & Rinaudo, M. Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. Marine drugs. 2015; 13(3): 1133–1174. DOI: [org/10.3390/md13031133](https://doi.org/10.3390/md13031133)
  24. Gortari M C & Hours R A. Biotechnological processes for chitin recovery out of crustacean waste: a mini-review. Electronic Journal of Biotechnology. 2013; 16(3): 14-14. DOI: [org/10.2225/vol16-issue3-fulltext-10](https://doi.org/10.2225/vol16-issue3-fulltext-10)
  25. Azuma K, Osaki T, Wakuda T, Ifuku S, Saimoto H, Tsuka T., et al. Beneficial and preventive effect of chitin nanofibrils in a dextran sulfate sodium-induced acute ulcerative colitis model. Carbohydrate polymers. 2012; 87(2): 1399-1403. DOI: 10.1016 / j.carbpol.2011.09.036



## **Tratamiento biológico de aguas residuales provenientes de plantas procesadoras de quinua**

### **Biological treatment of residual waters from quinoa processing plants**

Livaneza Concepción Bayas\*, Mabel Mariela Parada, Hugo Segundo Calderón

Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Carrera de Ingeniería Química, Riobamba, Ecuador.

E-mail: \*[livaneza.bayas@esPOCH.edu.ec](mailto:livaneza.bayas@esPOCH.edu.ec)

### **Resumen**

El presente estudio tuvo como objetivo realizar un tratamiento biológico al agua residual de plantas que procesan quinua y que éstas cumplan con la norma de calidad ambiental vigente para su descarga puesto que este tipo de aguas generan efluentes altamente contaminantes; para ello se ejecutó una caracterización inicial del agua que se desechaba en este tipo de industrias y así se determinó los parámetros que no cumplen con la normativa vigente para su descarga, siendo éstos: aceites y grasas (9 mg/L), color real (3520 Unds de Pt/Co), sólidos sedimentables (13500 mg/L), sólidos suspendidos totales (1195 mg/L), sólidos totales (4644 mg/L), nitrógeno total (250 mg/L), DQO (5000 mg/L), DBO<sub>5</sub> (2990 mg/L), tensoactivos (17,5 mg/L) y coliformes fecales (240 UFC/100ml); una vez analizados dichos parámetros se procedió a calcular el índice de biodegradabilidad con el cual se corroboró la posibilidad de ejecutar dicho tratamiento al agua residual, para ello se utilizó a nivel de laboratorio un sedimentador primario, un tanque de aireación con difusores como reactor biológico, un sedimentador secundario y por último un filtro de antracita y arena; de esta manera se logró obtener un agua tratada que cumple con la legislación actual para la descarga de efluentes a un cuerpo de agua dulce con un porcentaje de remoción de contaminantes del 97% y

dando la pauta para que incluso el agua pueda ser recirculada en el mismo proceso o reutilizada para otro fin pertinente.

**Palabras Clave:** Ingeniería química, tratamiento biológico, lavado de quinoa, índice de biodegradabilidad, parámetros contaminantes.

### ***Abstract***

The objective of this study was to carry out a biological treatment to the wastewater of plants that process quinoa and that these comply with the current environmental quality standard for its discharge since this type of water generates highly polluting effluents; For this, an initial characterization of the water that was discarded in this type of industry was carried out and thus the parameters that do not comply with the current regulations for its discharge were determined, these being: oils and fats (9 mg / L), real color ( 3520 Units of Pt / Co), Settable Solids (13500 mg / L), Total Suspended Solids (1195 mg / L), Total Solids (4644 mg / L), Total Nitrogen (250 mg / L), COD (5000 mg / L), BOD5 (2990 mg / L), surfactants (17.5 mg / L) and fecal coliforms (240 CFU / 100ml); Once these parameters had been analyzed, the biodegradability index was calculated with which the possibility of executing said treatment to the waste water was corroborated, for this, a primary settler, an aeration tank with diffusers as a biological reactor, was used at the laboratory level. a secondary settler and finally an anthracite and sand filter; In this way, it was possible to obtain treated water that complies with current legislation for the discharge of effluents to a body of fresh water with a pollutant removal percentage of 97% and giving the guideline so that even the water can be recirculated in the same process or reused for another relevant purpose.

**Keywords:** Chemical engineering, biological treatment, quinoa washing, biodegradability index, contaminating parameters.

### **Introducción**

Los gobiernos intentan obligar a quienes contaminan a que arreglen los efectos negativos que provocan sobre el medio ambiente (1). Tras procesar la quinua para su comercialización se generan aguas residuales que son desechadas al medio ambiente sin tratamiento previo alguno. Dicho procesamiento implica un desaponificado de la quinua el mismo que consiste en aplicar turbulencia en forma circular al grano de quinua para eliminar la saponina de éste (2). Como consecuencia del desaponificado de la quinua se generan efluentes con altas concentraciones de saponina que se desechan a acequias, manantiales y cursos de agua libremente ignorando su alta carga contaminante, la saponina que se encuentra en solución es muy tóxica para animales de agua fría como peces, moluscos, sapos, ranas y otros debido a que permeabiliza sus membranas respiratorias y causa su muerte (3). La toxicidad de este tipo de aguas residuales tiene un alto impacto en ecosistemas frágiles como el altiplano donde generalmente se cultiva y procesa la quinua en mayor cantidad (4).

Ecuador, al ser exportador de quinua se ve en la necesidad de tener una excelente calidad en sus productos y una continua innovación en sus procesos. Dicho esto, se ha generado gran preocupación en las plantas procesadoras de quinua ya que no dan ningún tratamiento al agua residual con altas concentraciones de saponina y simplemente la desechan generando inconformidades en auditorías ambientales y ocasionando posibles paras de producción, además del poco aprovechamiento que le estarían dando al agua que se utiliza en gran cantidad para el lavado de quinua y que tranquilamente podría ser recirculada o reutilizada en cualquier fin pertinente previo su tratamiento (5).

Uno de los principales contaminantes en aguas residuales son los tensoactivos conocidos también como agentes químicos de superficie activa que se encuentran en productos industriales como detergentes, pinturas, cosméticos entre otros: son unos de los principales contaminantes de aguas residuales (6); pero no todos los tensoactivos son industrializados como los citados anteriormente, también existen surfactantes naturales como las saponinas (7). Como resultado de los

efectos contaminantes de los tensoactivos se tiene aumento de pH, aumento de nutrientes en los cauces de agua que se depositan promoviendo la formación de algas, se pueden disolver en el agua metales pesados que generan mutaciones en especies, cloro y compuestos organoclorados suelen aumentar su concentración. Según estudios previos realizados los puntos antes tratados afectan a parámetros como: tensoactivos, demanda química de oxígeno, demanda

bioquímica de oxígeno, grasas y aceites, hidrocarburos totales, compuestos fenólicos y otros, sobrepasando los límites permisibles establecidos en la norma ambiental, superando en algunos de los casos, con concentraciones muy elevadas (8). Pese a que la saponina tiene múltiples aplicaciones no se conoce de un tratamiento que separe a la misma del efluente. Sin embargo, de manera generalizada se sabe de tratamientos físicos que pueden ser combinados con tratamientos biológicos o químicos dependiendo de las características que tenga el agua residual a tratar (9).

El presente trabajo tiene como objetivo aplicar un tratamiento biológico a las aguas residuales provenientes de plantas procesadoras de quinua para que cumplan con la norma de calidad ambiental vigente para su descarga y si es posible recircular y reutilizar el agua tratada. Los tratamientos biológicos tienen mayores rendimientos con menores costos económicos de explotación y mantenimiento, y combaten casi en su totalidad a los contaminantes, transformándolos en sustancias inocuas como el dióxido de carbono, metano, nitrógeno molecular y el agua; la mineralización de compuestos mediante microorganismos es entonces un proceso destructivo completo (10).

## **Materiales y Métodos**

La toma y almacenamiento de las muestras de agua residual se hizo bajo la normativa NTE INEN 2176: 2013 (11) y NTE INEN 2169: 2013 (12) en la planta procesadora de quinua COPROBICH, ubicada en el cantón Colta, perteneciente a la provincia de Chimborazo.

La caracterización fisicoquímica y microbiológica se llevó a cabo en el laboratorio de calidad de agua de la ESPOCH con procedimientos

establecidos en los métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales: APHA (13), AWWA (14), WPCF (15), STANDARD METHODS 21° EDICIÓN (16) y métodos HACH (17) adaptados del STANDARD METHODS 21° EDICIÓN.

Parámetros	Unidad	Muestra Agua Residual	Límite Max.
Aceites y grasas	mg/L	9	0,3
Color real	Unds de Pt/Co	3520	Inapreciable en dilución: 1/20
Turbiedad	NTU	931	.....
Conductividad	uS	1308	.....
pH		8,3	5-9
Color aparente	Unds de Pt/Co	3520	.....
Sólidos suspendidos totales	mg/L	1195	100
Temperatura	°C	19	< 35
Sólidos sedimentables	mg/L	1350	1
Sólidos totales	mg/L	0	
Sólidos totales	mg/L	4644	1600
Nitrógeno total	mg/L	250	15
DQO	mg/L	5000	250
DBO5	mg/L	2990	100
Coliformes fecales	UFC/10 0 ml	240	Remoción > al 99,9 %
Tensoactivos	mg/L	17,6	0,5

*Tabla 1. Análisis comparativo de los valores obtenidos de la caracterización fisicoquímica y microbiológica del agua residual con la normativa vigente (pH=potencial de hidrógeno, DQO=demanda química de oxígeno, DBO5=demanda bioquímica de oxígeno).*

Los valores obtenidos de la caracterización antes mencionada fueron comparados con los límites de descarga a un cuerpo de agua dulce

establecidos en la actualización hasta el año 2019 de la NORMA DE CALIDAD AMBIENTAL Y DESCARGA DE EFLUENTES: RECURSO AGUA (18) para establecer los parámetros que se encuentran fuera de la normativa vigente y así trabajar en base a éstos (Tabla 1).

DBO5 / DQO	Biodegradabilidad	Tipo de tratamiento
> 0,5	Muy biodegradable	Tratamiento biológico
0,2- 0,5	Biodegradable	Tratamiento biológico o fisicoquímico
< 0,2	Poco biodegradable	Tratamiento fisicoquímico

**Tabla 2. Índice de biodegradabilidad (DQO=demanda química de oxígeno, DBO5=demanda bioquímica de oxígeno)**

Los procesos que se emplearon para dar tratamiento al agua residual se obtuvieron de la experimentación a nivel de laboratorio, siendo éstos detallados a continuación:

➤ **Sedimentación primaria**

Debido al alto contenido de sólidos sedimentables en el agua residual, el primer proceso al que fue sometida dicha agua fue una sedimentación primaria durante 2 horas en la cual se separaron los sólidos de mayor tamaño. Los tanques de sedimentación primaria bien dimensionados eliminan 50 a 70 por 100 de los sólidos finamente divididos, y entre 25 a 40 por 100 de DBO<sub>5</sub> (20).

➤ **Aireación (Reactor Biológico)**

Este proceso es de vital importancia, ya que con éste se pretende eliminar la mayor cantidad de carga orgánica del agua residual y bajar los parámetros contaminantes en una gran proporción.

Para llevar a cabo la aireación se utilizó la muestra previamente sedimentada a la que se inyectó aire para mantener el agua en turbulencia con ayuda de una bomba y difusores, de esta manera se favoreció al crecimiento microbiano. Dichos organismos son los encargados de asimilar la materia orgánica formando flóculos (21). La



aireación se la realizó durante tres días (72 horas) ya que a partir de los tres días es que se consiguió buenos resultados.

Cabe destacar que la aireación fue muy lenta y utilizando unos difusores muy pequeños debido a que se genera una gran cantidad de espuma por la presencia de tensoactivos naturales en la muestra de agua residual (22).

#### ➤ *Sedimentación Secundaria*

Una vez culminada la aireación de la muestra de agua residual se procedió a realizar una nueva sedimentación por gravedad durante 5 horas para que la gran cantidad de materia orgánica formada en la aireación pueda precipitar por completo. las partículas aglomerables (materia orgánica que logra flocularse o hacerse grumos), se sedimenta cuando ganan el peso y se precipitan a la velocidad creciente en el tiempo (23).

#### ➤ *Filtración*

Por último, para alcanzar los límites establecidos en la normativa vigente se llevó a cabo una filtración para bajar en una mayor proporción la carga orgánica aún presente en la muestra de agua aireada.

El filtro que se utilizó para la última etapa de tratamiento estaba compuesto por arena y antracita y la filtración se realizó con bajos volúmenes de agua, muy lenta y controlada.

### **Resultados**

Se detallan los resultados obtenidos de la caracterización fisicoquímica y microbiológica del agua tratada a nivel de laboratorio los cuales también fueron comparados con los límites de descarga a un cuerpo de agua dulce establecidos en la normativa vigente con la finalidad corroborar la disminución en los valores obtenidos en un inicio y el porcentaje de remoción de los parámetros que en un inicio se encontraban fuera de norma y por tanto eran considerados como contaminantes (Tabla 3 y 4).

### **Discusión**

En los valores obtenidos de la primera caracterización (Tabla 1) se encontró una demanda bioquímica y química de oxígeno bastante elevada puesto que se trata del lavado de quinua la cual contiene una gran cantidad de saponinas mismas que se comportan como surfactantes naturales y alteran parámetros como: tensoactivos, demanda química de oxígeno, demanda bioquímica de oxígeno, grasas y aceites y otros (7), se encontró además una considerable presencia de nitrógeno debido al valor nutricional de la quinua; también no es raro que se hayan encontrado una gran cantidad de sólidos suspendidos, sedimentables y totales por el escarificado previo que sufre la quinua; otros parámetros que se encontraron fuera del límite permisible eran las grasas y los tensoactivos que también se justifica por lo mencionado antes acerca del comportamiento de la saponina como un tensoactivo natural.

Parametros	Unidad	Muestra Tratada	Límite Máx.
Aceites y Grasas	mg/l	0,1	0,3
Color Real	Unds de Pt/Co	30	Inapreciable en dilución: 1/20
Turbiedad	NTU	13,77	.....
Conductividad	uS	580	.....
pH		7,71	6-9
Sólidos Suspendidos Totales	mg/l	7	100
Temperatura	°C	21,8	< 35
Sólidos Sedimentables	mg/l	Ausencia	1
Sólidos Totales	mg/l	392	1600
N Total	mg/l	5	15
DQO	mg/l	224	250
DBO5	mg/l	94	100
Coliformes Fecales	UFC/10 0ml	Ausencia	Remoción > al 99,9 %
Tensoactivos	mg/l	0,16	0,5

***Tabla 3. Comparación de resultados obtenidos la caracterización fisicoquímica y microbiológica del agua tratada con la normativa***

*vigente (pH=potencial de hidrógeno, DQO=demanda química de oxígeno, DBO5=demanda bioquímica de oxígeno).*

Parámetros	Unidad	Muestra Agua Residual	Muestra Tratada	% Remoción
Aceites y grasas	mg/l	9	0,1	98,9
Sólidos suspendidos totales	mg/l	1195	7	99,4
Sólidos sedimentables	mg/l	13500	0	100,0
Sólidos Totales	mg/l	4644	392	91,6
Nitrógeno Total	mg/l	250	5	98,0
DQO	mg/l	5000	224	95,5
DBO5	mg/l	2990	94	96,9
Tensoactivos	mg/l	17,6	0,16	99,1
<b>PORCENTAJE DE REMOCIÓN TOTAL (%)</b>				<b>97,4</b>

**Tabla 4. Porcentaje de remoción de parámetros contaminantes (DQO=demanda química de oxígeno, DBO5=demanda bioquímica de oxígeno)**

El índice de biodegradabilidad de la muestra de agua residual tuvo un valor igual a 0,6 lo que quiere decir que es muy biodegradable (Tabla 2) y por ende se pudo realizar un tratamiento biológico para la depuración de su carga contaminante; dicho valor fue muy conveniente ya que uno de los planteamientos iniciales a más de cumplir con la normativa vigente fue el recircular el agua para el mismo proceso; para ello el agua no podía ser tratada con ningún químico puesto que estas empresas manejan normativas de exportación para las cuales deben cumplir con una certificación orgánica.

Se destaca que los procesos de aireación y filtrado fueron los principales responsables de la remoción de parámetros contaminantes ya que se evidenció una gran reducción en los mismos durante estos dos procesos; además existen algunas pruebas para identificar cualitativamente las saponinas, una de ellas se la conoce como prueba de espuma según Flores, Huamán y Tomás en su artículo publicado en

la Revista Peruana de Química e Ingeniería Química “ESTUDIO COMPARATIVO DE TRES METODOLOGÍAS CUANTITATIVAS DE EXTRACCIÓN DE SAPONINAS DE LA MELISA OFFICINALIS “TORONJIL””(23), dichas pruebas se realizaron antes y después de los procesos de aireación y filtrado para corroborar la efectiva disminución de la carga orgánica. Es importante mencionar que la filtración tuvo un gran papel ya que no se realizó una aireación prolongada por dos razones, la primera porque al ser un agua con tensoactivos naturales se generaba demasiada espuma y la segunda porque la muestra de agua a los tres días de aireación empezó a dar muy buenos resultados esto seguramente se debe a que el proceso en donde se tomó la muestra de agua utilizaba agua de pozo y no potable, puesto que esta última generalmente no tiene ningún tipo de microorganismos además de la presencia de nitrógeno (Tabla 1), principal nutriente de microorganismos en dicha muestra de agua por lo que se justificaría la eficaz aparición de microorganismos.

Según Julián Quiroga y Fabio López en su artículo publicado en la Revista de Tecnología “Tratamiento de aguas residuales mediante lodos activados a escala laboratorio”, menciona que: el oxígeno cumple un importante papel en el tratamiento biológico de aguas residuales, esto debido a que tanto su ausencia como presencia condiciona el tipo de organismos que se encargarán de eliminar o degradar la materia orgánica presente en el agua residual.(24) dicho esto se puede resaltar que la aireación realizada al agua residual tuvo una considerable influencia en el tratamiento biológico realizado ya que se obtuvo un porcentaje de remoción de contaminantes de 97,4 % (Tabla 4). Cabe destacar que los procesos empleados para el tratamiento biológico fueron validados exclusivamente por el cumplimiento de los parámetros con la normativa vigente (Tabla 3) y por la disminución de los parámetros contaminantes en cada uno de los mismos y principalmente con la comparación de la caracterización inicial y final de la muestra de agua tomada para realizarse dicho tratamiento (Tabla 4), asegurando de esta manera su gran eficiencia.

### **Conclusiones**

Este estudio es de suma importancia ya que constituye uno de los primeros en el que se logra realizar un tratamiento biológico de aguas

residuales provenientes del lavado de quinua en plantas procesadoras de la misma, cumpliendo de esta manera con la normativa vigente para descarga de efluentes en un cuerpo de agua dulce establecidos en su actualización hasta el año 2019 y obteniendo un porcentaje de remoción de carga contaminante igual al 97,4% un valor bastante bueno y aceptable. Además, se aprovecha al máximo el recurso agua ya que se recomienda la recirculación del agua tratada o su reutilización para fines pertinentes.

Cabe destacar que en estudios posteriores es necesario analizar los lodos generados como subproducto a lo largo del tratamiento ya que tienen una alta concentración de saponinas, mismas que son muy apetecidas comercialmente para la elaboración de otros productos como shampoo, jabón, pasta dental, insecticidas, entre otros.

### **Agradecimientos**

Se destaca el aporte tan indispensable y necesario por parte de la Corporación de Productores y Comercializadores Orgánicos Bio Taita Chimborazo (COPROBICH) y se extiende de manera muy especial un sincero agradecimiento por su buena acogida y su presta colaboración.

### **Referencias**

1. Moreno E. La experiencia de Holanda y Alemania en el uso de cargos por vertimientos de aguas residuales como instrumento para el control de la contaminación hídrica Elementos para decidir los parámetros a ser. *Economía y Desarrollo*. 2005; 4(1): 57-83.
2. Nieto C, Vimos C, Monteros Caicedo C, Rivera M. NIAP-Ingapirca e INIAP-Tunkahuan: dos variedades de quinua de bajo contenido de saponina. 1992; p. 20.
3. Guamarra M, Aguilar I (dir). La adopción de tecnología como una forma de internalizar las externalidades ambientales del beneficiado de quinua en Oruro Bolivia. [Internet]. [Monterrey]: CONACYT; 2016. Disponible en: <https://www.colef.mx/posgrado/wp-content/uploads/2016/12/TESIS-Del-Barco-Gamarra-Mar%C3%ADa-Teresa.pdf>.
4. Echalar A, Torrico J. Consecuencias del incremento de la producción de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en el Altiplano Sur de Bolivia. *Ciencia Agronómica*. 2015; 1: 29-34.

5. Villaroel J, García E (dir). Optimización del proceso de desaponificado de la quinua por el método de lavado, mediante la implementación de una lavadora industrial en la empresa Asoalienu. [Tesis]. [Riobamba]: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2019.
6. Usiña K, Borja P. Análisis de las propiedades surfactantes de saponinas obtenidas de los frutos de Sapindus Saponaria L. [Tesis]. [Quito]: Universidad Central del Ecuador; 2017.
7. Rodriguez J. Monar G (dir). Determinación y cuantificación de saponinas en las hojas de la cabuya (furcraea andina) para su posible uso como tensoactivo en detergentes biodegradables. [Tesis]. [Guayaquil]: Universidad de Guayaquil; 2017.
8. Brand D. Efectos de los tensoactivos en el medio ambiente. [Internet]. [Cali]: Universidad de Santiago de Cali; 2019. Disponible en: <https://repository.usc.edu.co/bitstream/20.500.12421/623/1/EFECTOS%20DE%20LOS%20TENSOACTIVOS.pdf>.
9. Romero J. Tratamiento de aguas residuales, teoría y principios de diseño [Internet]. [Bogotá]: Escuela Colombiana de Ingenieros; 2004. Recuperado de: <http://dspace.ucbscz.edu.bo/dspace/bitstream/123456789/22876/1/11991.pdf>
10. Anáiz C. Tratamiento biológico de aguas residuales. Revista Tecnológica del Agua [Internet]. 2000. [Consultado 22 Nov 2019]; 1. Disponible en: <https://cidta.usal.es/cursos/etap/modulos/libros/edar.pdf>
11. NORMALIZACIÓN I. E. 1998. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2176; 2013.
12. INEN. Norma Técnica Ecuatoriana. 2169.1998. Agua. Calidad del agua. Muestreo. Manejo y conservación de muestras. Quito-Ecuador; 2013.
13. Torres S. & de Navia S. Calidad fisicoquímica y microbiológica del agua del municipio de Bojacá, Cundinamarca [Internet]. 2010. [Consultado 24 Nov 2019]; 8(14). Disponible en: <https://cidta.usal.es/cursos/etap/modulos/libros/edar.pdf>
14. AWWA. Norma ANSI. AWWA C654-87. Desinfección de pozos; 1987.
15. SANEAMIENTO AMBIENTAL. Companhia de Tecnología. [Internet]. [Consultado 12 Dic 2019]. Disponible en: <https://www.cetesb.sp.gov.br>
16. Van H. Current situation on regulations for mycotoxins. Overview of



- tolerances and status of standard methods of sampling and analysis. Food Additives & Contaminants, 1989; 6 (2):139-188.
17. Sosa de Martínez M, Pablos H, Santos A. Guía para elaborar el protocolo de investigación: IV. material y métodos/resumen de la metodología/diseño del estudio. 1995; P. 21.
  18. NORMA DE CALIDAD AMBIENTAL Y DE DESCARGA DE EFLUENTES: RECURSO AGUA [Internet]. [Consultado 12 Dic 2019]. Disponible en: <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/ecu112180.pdf>
  19. Metcalf L, Eddy H. Ingeniería de aguas residuales. tratamiento, vertido y reutilización. 3era ed. Madrid-España: McGraw-Hill; 1995.
  20. Montiel H. Desarrollo de un software para la simulación de sistemas de tratamiento por lodos activados a partir del modelo ASM1 [Internet]. [Consultado 20 Dic 2019]. Disponible en: <http://universidadpersonal.net/doc-elec/112817.pdf>
  21. Vargas O. Comportamiento de la eficiencia de remoción de materia orgánica en un biorreactor de lecho móvil alimentado con agua residual doméstica, con la variación del volumen del lecho [Internet]. [Consultado 20 Dic 2019]. Disponible en: [https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1349&context=ing\\_ambiental\\_sanitaria](https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1349&context=ing_ambiental_sanitaria)
  22. Muñoz A. Caracterización y tratamiento de aguas residuales [Internet]. [Estado de Hidalgo]: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo; 2008. Disponible en: <http://universidadpersonal.net/doc-elec/112817.pdf>  
Uvidia J, Vvillacrés M (dir). Optimización de la planta de tratamiento de agua potable de ciudad de Chambo [Tesis]. [Riobamba]: Escuela Ssuperior Politécnica de Chimborazo; 2014.
  23. Flores T, Huamán J, Tomás G. Estudio comparativo de tres metodologías cuantitativas de extracción de saponinas de la melisa officinalis “toronjil”. Revista Peruana de Química e Ingeniería Química. 2013; 16(2). 47-51
  24. Quiroga J, López F. Tratamiento de aguas residuales mediante lodos activados a escala laboratorio. Revista de Tecnología. 2008; 7(2). 21-28.

**Obtención de extruido de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) sabor a vainilla, chocolate, maracuyá y su proceso industrial**

**Obtention of quinoa extruded (*Chenopodium quinoa* Willd); vanilla, chocolate and passion fruit flavors, and its industrial process**

Diego Villa Valdivieso<sup>1</sup>, Mabel Parada Rivera<sup>1</sup>, Marlene García Veloz<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Ingeniería Química, Riobamba, Ecuador, e-mail: [diego.villa@esPOCH.edu.ec](mailto:diego.villa@esPOCH.edu.ec)

***Resumen***

El presente trabajo tuvo por principal objetivo diseñar el proceso industrial para la elaboración de extruido de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) sabor a vainilla, chocolate y maracuyá, donde para cumplirlo se inició con la caracterización física, bromatológica y microbiológica de la materia prima acorde a la “NTE INEN 1673 (2013): Quinoa. Requisitos.”, seguido a esto se desarrolló el proceso tanto a nivel de laboratorio como industrial en donde se determinaron las operaciones unitarias idóneas para un diseño preciso entre las que constan la extrusión, la evaporación, el mezclado y el secado, a la vez se tomaron los datos necesarios de las variables del proceso (humedad, temperatura y tiempo) que ayudarían a realizar todos los cálculos de ingeniería indispensables para generar una producción diaria que utiliza 17 kg de extruido de quinua natural para obtener 22,702 kg de vainilla, 23,491 de chocolate o 24,137 kg de maracuyá, valores que fueron determinados mediante balances de masa. Con las muestras elaboradas se procedió a realizar una ficha de evaluación sensorial utilizando una prueba de preferencia en la que el sabor de vainilla tuvo un 63,03% de aceptabilidad, seguido del de maracuyá con un 20,72% y por último el de chocolate con un 16,22%. Una vez se culminó el diseño se realizó su validación a través de la “NTE INEN 2570 (2011): Bocaditos de

granos, cereales y semillas. Requisitos.”, registrando valores dentro de los límites recomendados por dicha norma, por lo tanto el producto es apto para el consumo humano.

**Palabras clave:** *humedad, extrusión, balance de masa, seguridad alimentaria Statgraphycs (software).*

### **Abstract**

The main objective of this work was to design the industrial process for the elaboration of quinoa extruded (*Chenopodium quinoa* Willd) of vanilla, chocolate and passion fruit flavors. The first step was the physical, bromatological and microbiological characterization of the raw material according to the "NTE INEN 1673 (2013): Quinoa Requirements". Next, both the laboratory and industrial processes were performed, in which the unitary operations suitable for precise design were determined, including extrusion, evaporation, mixing and drying. Simultaneously, data of the necessary processes were taken (humidity, temperature and time) these helped to perform all engineering calculations essential to generate a daily production using 17 kg of natural quinoa extrude to obtain 22,702 kg of vanilla, 23,491 kg of chocolate or 24,137 kg of passion fruit, values that were determined by mass balances. With these processed samples, a sensory evaluation was conducted using a preference test in which the vanilla flavor obtained a 63.03% acceptability, followed by passion fruit with 20.72%, and finally chocolate with 16.22%. Once it was completed, the design was validated through the "NTE INEN 2570 (2011): grain, cereal and seed snacks. Requirements", recording values within the limits recommended by the norm. Thus, the product is suitable for human consumption.

**Keywords:** *humidity, extrusion, mass balance, food safety, Statgraphycs (software).*

### **Introducción**

La quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) es un pseudocereal propio de América del Sur (1), debido a su alta calidad nutricional y a la capacidad de soportar condiciones ambientales extremas, la quinua ha sido seleccionada como uno de los cultivos destinados a ofrecer seguridad alimentaria en el siglo XXI (2), a tal punto de ser considerado un superalimento. En nuestro país, las provincias que mayor aptitud tienen para el cultivo de esta especie son: Bolívar, Cañar, Carchi, Cotopaxi, Chimborazo, Imbabura, Pichincha y Tungurahua. La quinua como producto industrial y alimenticio inició a ganar espacio en el mercado mundial, especialmente como producto orgánico (3). La quinua se utiliza en la alimentación del ser humano, en el desayuno como producto balanceado con otros granos, en sopas, guisos, chicha blanca, por enumerar algunas de los preparados tradicionales en los países andinos (4), lastimosamente y en especial los niños no ven a la quinua como un producto agradable al gusto a pesar de que éste es recomendado por profesionales para un crecimiento fuerte y sano. A medida que el hombre evoluciona, las necesidades y las ganas de que su nivel de vida mejore aumentan; de la manufactura artesanal, pasa a la industrial gracias a la ciencia y tecnología, satisfaciendo las necesidades de un mercado más amplio (5).

Dichos antecedentes han provocado que investigadores pongan su interés en desarrollar productos derivados de la quinua, para aumentar su consumo y por ende mejorar los ingresos económicos de sus productores. Con este motivo actualmente se han desarrollado diferentes líneas de productos elaborados, los más populares son: quinoto, harina, hojuelas, pasta, premezclas de harina fortificada, precocidos con vegetales y carnes, sopas, bebidas, extruidos, entre otros (6). Por lo que en el presente estudio se desea establecer formulaciones para elaborar extruido de quinua a nivel de laboratorio y diseñar un proceso para su obtención a nivel industrial, a partir de quinua como materia prima, diferentes insumos y varias operaciones unitarias para su procesamiento.

### **Materiales y Métodos**

Como materia prima se utilizó el grano de quinua orgánica procesado por la Corporación de Productores y Comercializadores Orgánicos Bio Taita Chimborazo (COPROBICH), ubicada en el cantón Colta, perteneciente a la provincia de Chimborazo, mientras que los insumos tales como: el saborizante de vainilla, la barra de chocolate, la pulpa de maracuyá, la leche y el azúcar fueron productos de marcas comerciales.

Se caracterizó la quinua mediante un análisis físico, bromatológico y microbiológico acorde a la NTE INEN 1673:2013 (7). Para la caracterización física se utilizó el método de ensayo suscrito en la NTE INEN 1671:2013 (8), Tabla 1; para su análisis bromatológico fueron necesarios los métodos siguientes: para humedad AOAC 925.10 (9), para proteína AOAC 2001.11 (10), para ceniza AOAC 923.03 (11), para grasa AOAC 2003.06 (12), para fibra cruda NTE INEN 522:2013 (13), y el respectivo cálculo para carbohidratos, Tabla 2; y para su estudio microbiológico en el cual se hizo un conteo de mohos y de levaduras se requirió del método AOAC 997.02 (14), Tabla 3.

Requisito	Valores NTE INEN 1673		Resultado
	Mínimo	Máximo	
Piedrecillas en 100 gramos de muestra	-	Ausencia	Ausencia
Insectos (enteros, partes o larvas)	-	Ausencia	Ausencia

*Tabla 1. Resultados de la caracterización física de la quinua.*

Requisito	Valores NTE INEN 1673		Resultado
	Mínimo	Máximo	
Humedad	-	13,5%	9,77
Proteínas	10%	-	12,99
Cenizas	-	3,5%	2,65
Grasa	4%	-	7,25
Fibra cruda	3%	-	1,93
Carbohidratos	65%	-	65,41

*Tabla 2. Resultados de la caracterización bromatológica de la quinua.*

Requisito	Valores NTE INEN 1673		Resultado
	m (buena calidad)	M (calidad aceptada)	
Mohos	10 <sup>2</sup>	10 <sup>5</sup>	10 UFC/g
Levaduras	-	-	< 10 UFC/g

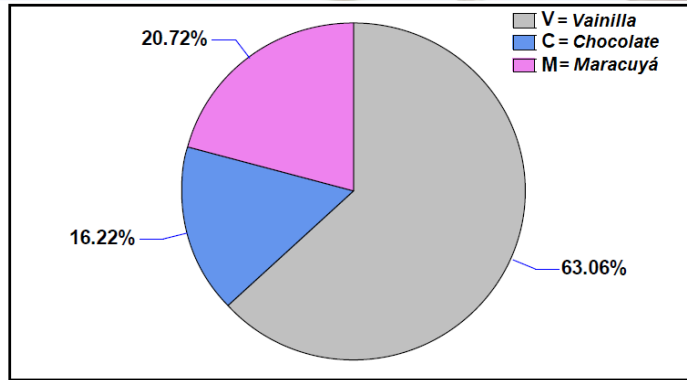
*Tabla 3. Resultados de la caracterización microbiológica de la quinua.*

La formulación de cada uno de los productos se llevó a cabo a nivel de laboratorio en el que fueron definidas las cantidades exactas tanto de materia prima como de insumos a utilizar, de la siguiente manera: el extruido de vainilla posee en su formulación un 59,5% de quinua, 26% de leche, 12% de azúcar y 2,5% de saborizante; por su parte el de chocolate presenta un porcentaje de quinua del 59%, de leche un 13%, de azúcar un 8% y de chocolate en barra un 20%; y por último el extruido de maracuyá tiene el 43% de quinua, 9,5% de leche, 9,5 % de agua, 19% de azúcar y 19% de pulpa de maracuyá. De esta manera se obtuvo un producto de calidad en términos de su proceso de producción ya que cumple con las normas técnicas de referencia INEN tanto en la materia prima como en el producto terminado. Se determinó el conjunto de operaciones unitarias (extrusión, evaporación, mezclado y secado) capaces de emular el procedimiento de laboratorio a una escala mayor y las variables de proceso a controlar durante el mismo (humedad, temperatura y tiempo), mediante estas operaciones se podrá modificar las propiedades de la materia prima con el fin de obtener el producto deseado (15).

### **Análisis de aceptabilidad**

Se realizó un análisis mediante una Ficha de Evaluación Sensorial con una prueba de preferencia donde el consumidor (111 personas) realizó una elección entre los productos, esto con el fin de determinar el sabor o los sabores de extruido de quinua que se deberán producir, con qué frecuencia, y cuál será la oportunidad que tiene cada uno para ingresar al mercado, a continuación se detalla rápidamente el resultado del estudio:





*Figura 1. Porcentaje de aceptabilidad de cada tipo de extruido de quinua*

Con todo lo antes expuesto se procedió a realizar el escalamiento industrial, es decir, convertirlo de su escala de investigación (laboratorio) a escala industrial (producción) (16), para esto las cantidades mencionadas posteriormente corresponden al diseño de una producción diaria de cada uno de los tipos de sabores del producto final.

### **Extrusión**

Haciendo uso de 19,45 kg de quinua con 18% de humedad se llevó a cabo la extrusión (proceso por lotes), donde se alimentó la extrusora tipo cañón que de acuerdo con sus especificaciones tiene la capacidad de extruir 1,024 kg de quinua por minuto, la cual por efecto de la presión y temperatura idóneas hace que la quinua cambie su textura, forma y sabor (17), se obtuvo 0,895 kg de extruido de quinua natural por cada lote, es decir, se elaboró 17 kg de este subproducto, el mismo que fue empacado para evitar que, por su alto nivel de higroscopía, se altere su textura.

### **Mezclado de insumos**

Los insumos tales como la leche y el azúcar se mezclaron respectivamente con cada uno de los saborizantes (vainilla, barra de chocolate, pulpa de maracuyá), constantemente agitando por un lapso de 5 minutos, tiempo necesario para conseguir una mezcla totalmente homogénea. Al final, se obtuvo tres distintas mezclas, cada una con diferente sabor, que servirán para el siguiente proceso.

## Evaporación

Se procedió a evaporar cada una de las mezclas anteriores, a una temperatura de 92 °C y al cabo de 3 horas se obtuvieron concentrados valorados mediante métodos de análisis como: para la viscosidad el método Brookfield, los grados Brix mediante el refractómetro, la densidad mediante el picnómetro y el pH con el método potenciométrico:

Producto	Viscosidad	Grados Brix	Densidad	pH
Extruido Vainilla	27,959 kg/m.s	66,82 ° Bx	1453 kg/m <sup>3</sup>	6,1
Extruido Chocolate	112,836 kg/m.s	71,32 ° Bx	1244 kg/m <sup>3</sup>	6,8
Extruido Maracuyá	17,132 kg/m.s	75,76 ° Bx	1323 kg/m <sup>3</sup>	3,4

*Tabla 4. Condiciones óptimas del evaporado de cada sabor*

## Mezclado

Se pesó 17 kg de extruido de quinua natural que previamente fue empacado, esta cantidad fue colocada en un mezclador regulado a una velocidad de 1000 rpm, se procedió a realizar la operación insertando paulatinamente un determinado concentrado (vainilla, chocolate o maracuyá) por alrededor de 5-10 minutos, tiempo en el que se consigue una mezcla homogénea.

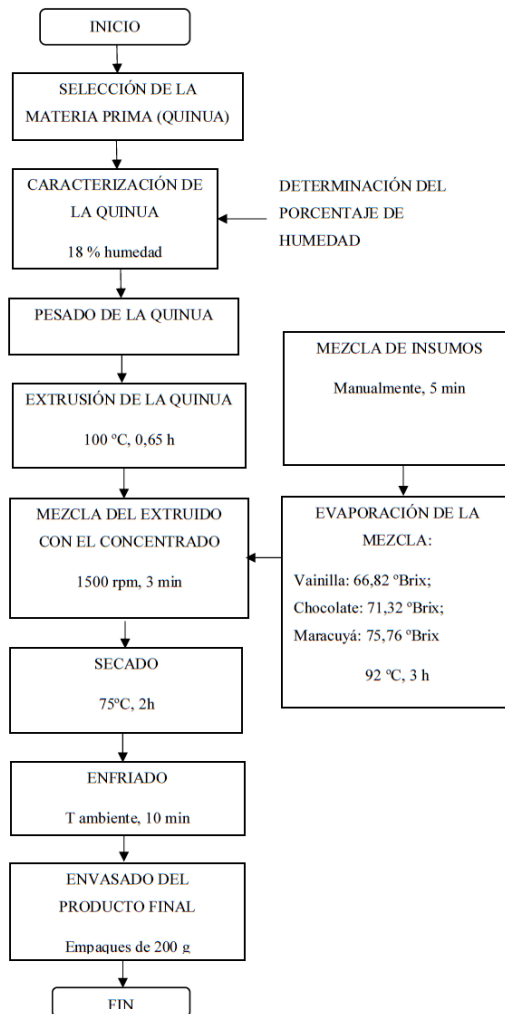
## Secado

En seguida al obtener la mezcla, ésta se colocó (500 g aprox.) en cada una de las bandejas del secador, a continuación, se realizó una buena distribución en las mismas para luego ingresarlas al equipo que estuvo acondicionado a 75 °C durante 2 horas. Al término de este proceso se observó que de los 17 kg de extruido de quinua natural que se utilizó y añadido su respectivo concentrado se obtuvo: 22,702 kg de extruido de quinua sabor a vainilla, 23,491 kg sabor a chocolate y 24,137 kg sabor a maracuyá.

## Envasado y almacenamiento

Se utilizó un envase interno de polipropileno de baja densidad y como envase externo cajas de cartón, esto para darle una buena presentación y que esté a la

altura de productos de la competencia, cada caja tiene un contenido neto de 200 g. A continuación, el producto pasó al área de almacenamiento para su posterior distribución.



**Figura 2. Diagrama del proceso**

## Resultados

Para llevar a efecto el actual estudio en primer lugar se realizó el análisis de la materia prima (quinua) perteneciente a la empresa COPROBICH, esta caracterización se basó en la NTE INEN 1673:2013 (7), obteniendo los resultados mostrados en las Tabla 1, 2 y 3.

Al haber aplicado una ficha de evaluación sensorial a 111 personas elegidas al azar que actuaron como jueces afectivos y después de haberles realizado una degustación de los tres tipos de extruido de quinua saborizado, se determinó que considerando todos los parámetros analizados la muestra con código “V” perteneciente al sabor de vainilla es la que cuenta con la mayor aceptabilidad por parte de los jueces con un 63,06%, en segundo lugar con un 20,72% se encuentra la muestra “M” correspondiente al sabor maracuyá y por último tenemos la muestra “C” propia del sabor chocolate con un porcentaje de aceptabilidad del 16,22%.

Se realizó los cálculos de ingeniería tales como balances de masa parciales y globales, cálculo de pérdidas por evaporación, de variación de humedad, de velocidad de secado, entre otros; necesarios para utilizar en la producción diaria de 17 kg de extruido de quinua natural, además se contempló los equipos que serán imprescindibles adquirir para llevar a cabo el proceso de una manera óptima. Para que el proceso industrial funcione tal y como se ha diseñado, se deberá utilizar una extrusora de cereales tipo cañón, ésta es fabricada en acero inoxidable 304 con tapa de alta resistencia y con capacidad de 60 kg/h, en la cual va a ingresar los 19,5 kg diarios de quinua necesarios para la producción planificada, obviamente en lotes (1,024 kg), cabe recalcar que el proceso de extrusión se demora 1 minuto aproximadamente por tal motivo se considera que para la cantidad mencionada se va a utilizar 40 minutos tomando en cuenta los lapsos entre ingresar la materia prima y sacar el extruido; se necesitará una marmita en la que se van a desarrollar los concentrados para cada uno de los sabores, se ha sugerido que ésta sea eléctrica para no tener que utilizar un caldero además de que tenga una capacidad de 25 litros para que sea suficiente para manejar la producción planificada. También se deberá adquirir un mezclador con capacidad para 40 l considerando que van a ingresar para el sabor vainilla 23,96 kg entre extruido natural y concentrado, para el de chocolate 25,242 kg o para el de maracuyá 26,114 kg, que serán mezclados en lotes. Y por último se deberá adquirir un secador de bandejas tipo armario con capacidad de albergar en cada bandeja 500 g de muestra lista para ser secada.

La validación de este proceso industrial se efectuó con base en un análisis de los tres extruidos de quinua saborizados mediante una caracterización bromatológica y microbiológica, en las que se observa un cumplimiento satisfactorio con la NTE INEN 2570: 2011 (18). Para su análisis

bromatológico se utilizó los siguientes métodos: para grasa AOAC 2003.06 (12) y para índice de peróxidos NTE INEN ISO 3960:2013 (19), Tabla 5; y su estudio microbiológico en el cual: se realizó un conteo de mohos y de levaduras por medio del método AOAC 997.02 (14), un conteo de aerobios totales con el AOAC 990.12 (20) y finalmente un conteo de *E. Coli* con el método de ensayo AOAC 991.14 (21), Tabla 6.

Requisito	Valores NTE INEN 2570	Resultado
<b>Extruido de quinua sabor a Vainilla</b>		
Grasa Extraída	-	5,05 %
Índice de peróxidos	10,00	0,00 meq O <sub>2</sub> /kg
<b>Extruido de quinua sabor a Chocolate</b>		
Grasa Extraída	-	11,64 %
Índice de peróxidos	10,00	1,66 meq O <sub>2</sub> /kg
<b>Extruido de quinua sabor a Chocolate</b>		
Grasa Extraída	-	3,83 %
Índice de peróxidos	10,00	0,00 meq O <sub>2</sub> /kg

**Tabla 5. Resultados de la caracterización bromatológica del extruido de quinua.**

Requisito	Valores NTE INEN 2570	Resultado
<b>Extruido de quinua sabor a Vainilla</b>		
Mohos y levaduras	10	< 10 UFC/g
Aerobios tot.	10 <sup>3</sup>	10 UFC/g
<i>E. Coli</i>	< 10	< 10 UFC/g
<b>Extruido de quinua sabor a Chocolate</b>		
Mohos y levaduras	10	< 10 UFC/g
Aerobios tot.	10 <sup>3</sup>	1,2*10 <sup>2</sup> UFC/g
<i>E. Coli</i>	< 10	< 10 UFC/g
<b>Extruido de quinua sabor a Chocolate</b>		
Mohos y levaduras	10	< 10 UFC/g
Aerobios tot.	10 <sup>3</sup>	20 UFC/g
<i>E. Coli</i>	< 10	< 10 UFC/g

**Tabla 6. Resultados de la caracterización microbiológica del extruido de quinua.**

## **Discusión**

La quinua con la que se trabajó corresponde a la variedad de quinua “Nativa de Chimborazo”, por lo que su composición va a ser diferente a la quinua que se da en otros lugares del país, es por eso que se realiza un contraste, de este tipo de quinua versus la variedad Tunkahuan, fundamentado en el estudio “La quinua en Ecuador” realizado por el Ing. Eduardo Peralta del INIAP, en el cuál se describe que este tipo contiene un 66,73% de carbohidratos (22), por lo que se recomienda realizar pruebas con esta variedad y observar si se puede tener un extruido con mejores propiedades ya que el porcentaje de carbohidratos es fundamental en el proceso de extrusión tanto como la humedad.

El proceso industrial para la producción de los diferentes tipos de pop de quinua saborizado se diseñó utilizando las operaciones unitarias que más óptimo hagan del mismo, tanto económica como técnicamente, mismo que al compararse con el proceso de producción planteado por Stephanie Erazo en su “Plan de negocios para la producción y exportación de pop de quinua orgánica con endulzantes naturales a Madrid-España” difieren bastante en las operaciones usadas (explosión para pop – horneado – caramelizado) (23), esto puede deberse a que en el mencionado trabajo no se saboriza sino solamente se endulza, a la vez cabe mencionar que en este estudio sí se probó con un horno pero por optimización de recursos se decidió utilizar un secador de bandejas y el resultado prácticamente fue el mismo. En el mismo trabajo se analiza la parte comercial del producto, donde Erazo menciona que el precio óptimo para llegar a competir con el producto en el mercado de destino es de € 4,89 (24), es decir, \$5,78 aproximadamente por cada 300 gramos de producto, esto fue determinado mediante un Análisis de Precios Van Westendorp por tal motivo el modelo es aceptado como confiable, a partir de esto se observa que nuestro precio (\$2,50 por 200 g de producto) es bastante aceptable para el mercado nacional, además de que es rentable y tiene el valor agregado de ser saborizado.

Según Milagros Arotaype y Maura Medina, en su tesis de maestría en finanzas “Plan de negocios para la producción y comercialización de productos en base a quinua: pop – quinua, en la ciudad de Arequipa”,



menciona que: dada esta tendencia y el resultado de nuestra encuesta en la que el 91% estaría dispuesto a probar una nueva marca de cereal (25), se escoge el pop de quinua; con estos datos y observando la aceptabilidad que tuvo el producto objeto de este estudio se determina tanto técnica como económicamente que el estudio es factible de poner en marcha.

Cabe destacar que no se encuentran estudios técnicos similares para poder comparar los resultados de mejor manera y por eso se realizó así.

### **Estimación del proyecto y viabilidad del proyecto**

El desarrollo de productos derivados de quinua en la actualidad presentan un alto potencial comercial en todo el mundo debido a que la FAO denomina a la quinua como un recurso alimentario natural de gran valor nutritivo cuya importancia es cada vez más reconocida en la seguridad alimentaria (26). Es así que se plantea elaborar los tres tipos de extruido de quinua saborizado con 4,7 toneladas de quinua que se tendría a disposición anualmente, la planta deberá trabajar de lunes a viernes, es decir, 20 días al mes durante todo el año produciendo 2313 empaques de extruido de quinua de 200 g c/u, esto tendrá la capacidad de generar ingresos por un monto de \$32368,32 aproximadamente y sabiendo que la inversión total para el primer año de funcionamiento de la planta es de \$45897,50 se puede deducir que al cabo de 1 año y medio aproximadamente ya se estaría recuperando la inversión por completo.

### **Conclusiones**

Se verificó que los parámetros valorados en la materia prima se encuentren dentro de los límites establecidos en la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1673 (2013): Quinua. Requisitos., es así que, se consideró la quinua como apta para la elaboración de los tres tipos de extruido de quinua saborizado.

Se determinó las variables de proceso indispensables tales como: humedad, temperatura y tiempo, las cuales a lo largo de la elaboración del extruido de quinua fueron minuciosamente controladas, en las diferentes operaciones que conforman el proceso.

Se estableció tanto la formulación correcta para cada uno de los tipos de producto como el listado de equipos y maquinarias necesarias para poder poner en marcha este proceso de producción.

Se evidenció que los productos finales obtenidos cumplen satisfactoriamente con los parámetros establecidos en la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2570 (2011): Bocaditos de granos, cereales y semillas. Requisitos.

### **Agradecimientos**

Se agradece a la Corporación de Productores y Comercializadores Orgánicos Bio Taita Chimborazo COPROBICH por su aporte brindado al presente y de manera especial al Comité Europeo para la Formación y la Agricultura CEFA por haberse interesado en este estudio y aportar con el financiamiento para que éste sea llevado a la realidad como un emprendimiento local.

### **Referencias**

1. Peiretti P, Gaia F, Tassoneb S. Fatty acid profile and nutritive value of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds and plants at different growth stages. *Animal Feed Science and Technology*. 2013
2. Jacobsen S. Cultivo de granos andinos en Ecuador: informe sobre los rubros quinoa, chocho y amaranto. Quito: Abya Yala; 2002; p. 5.
3. Villacrés E, Peralta E, Egas L, Mazón N. Potencial agroindustrial de la quinoa. *Boletín divulgativo*. 2011; 146: 5.
4. Mujica A, Jacobsen S. La quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) y sus parientes silvestres. *Botanica económica de los Andes Centrales*. 2006; 32: 449-457.
5. Cuadrado S, Cerda N (dir). *La Quinoa en el Ecuador, Situación Actual y su Industrialización* [Tesis]. [Quito]: Universidad Politécnica Salesiana; 2012.
6. Consultoría: Estudio de Mercado de la Quinoa y sus derivados para la Corporación de Productores y Comercializadores Orgánicos Bio Taita Chimborazo "COPROBICH". 2016; p. 2-3
7. ECUADOR. INSTITUTO NACIONAL ECUATORIANO DE NORMALIZACION. Quinoa. Requisitos; 2013.
8. ECUADOR. INSTITUTO NACIONAL ECUATORIANO DE NORMALIZACION. Quinoa. Determinación del nivel de infestación y de las impurezas; 1988.
9. AOAC INTERNATIONAL. Official Method 925.10 Determination of moisture. 17<sup>th</sup> Ed. Rockville, MD, EE. UU; 2000.
10. AOAC INTERNATIONAL. Official Method 2001.11 Protein (Crude) in Animal Feed, Forage (Plant Tissue), Grain, and Oilseeds. 17<sup>th</sup> Ed. Rockville, MD, EE. UU; 2000.

11. AOAC INTERNATIONAL. Official Method 923.03 Determination of total ash and organic matter. 17<sup>th</sup> Ed. Rockville, MD, EE. UU; 2000.
12. AOAC INTERNATIONAL. Official Method 2003.06 Fat in food, cereals and fodder. 17<sup>th</sup> Ed. Rockville, MD, EE. UU; 2000.
13. ECUADOR. INSTITUTO NACIONAL ECUATORIANO DE NORMALIZACION. Harinas de origen vegetal. Determinación de la fibra; 2013.
14. AOAC INTERNATIONAL. Official Method 997.02 Yeast and Mold Count in Foods. 17<sup>th</sup> Ed. Rockville, MD, EE. UU; 2000.
15. Ibarz, Albert, and Alberto Ibarz Ribas. Operaciones unitarias en la ingeniería de alimentos. Mundi-Prensa Libros, 2005; p 25
16. Anaya-Durand, Alejandro, Pedroza-Flores, Humberto, Escalamiento, el arte de la ingeniería química: Plantas piloto, el paso entre el huevo y la gallina. Tecnología, Ciencia, Educación [Internet]. 2008; 23 (1): 32. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=48223105>
17. Colina, M. SGPWE Extrusión. [Internet]. 2018. Recuperado de: <http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/mlci/extrusion.pdf>
18. ECUADOR. INSTITUTO NACIONAL ECUATORIANO DE NORMALIZACION. Bocaditos de granos, cereales y semillas. Requisitos; 2011.
19. ECUADOR. INSTITUTO NACIONAL ECUATORIANO DE NORMALIZACION. Aceites y grasas de origen animal y vegetal. Determinación del índice de peróxido. Determinación yodométrica del punto final. (IDT); 2013.
20. AOAC INTERNATIONAL. Official Method 990.12 Aerobic Plate Count in Foods. 17<sup>th</sup> Ed. Rockville, MD, EE. UU; 2000.
21. AOAC INTERNATIONAL. Official Method 991.14 Coliform and *Escherichia coli* Count in Foods. 17<sup>th</sup> Ed. Rockville, MD, EE. UU; 2000.
22. Peralta, E. La Quinoa en Ecuador “Estado del Arte” [Internet]. 2009; pp. 16-17. Recuperado de: <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/805/1/iniapsclgaq1.pdf>
23. Erazo, S. Plan de negocios para la producción y exportación de pop de quinua orgánica con endulzantes naturales a Madrid-España [Internet]. 2019; pp. 60-61. Recuperado de: <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/11467>
24. Erazo, S. Plan de negocios para la producción y exportación de pop de quinua orgánica con endulzantes naturales a Madrid-España [Internet]. 2019; pp. 21. Recuperado de: <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/11467>

25. Arotaype, M, Medina M. Plan de negocios para la producción y comercialización de productos en base a quinua: pop – quinua, en la ciudad de Arequipa [Internet]. 2019; pp. 46. Recuperado de:  
<https://repositorioacademico.upc.edu.pe/handle/10757/625830>
26. ORGANIZACIÓN PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA. Quinua. [Internet]. 2019. Recuperado de: <http://www.fao.org/quinoa/es/>