

Obtaining and evaluation of natural hair dye based on the green husk of Juglans sp.

Galván-Santos, F.N., Amaya-Ramírez, C.R., González-Cortés, A., Casique-Valdés, R.

Al2O3 modificado con Zn2+ obtenido por el método sol-gel aplicado en la degradación de fenol por fotocátalisis heterogénea

Aguilar-Martínez, O., Piña-Pérez, Y., Tzompantzi-Morales, F.

Electrofitoremediación: remediación híbrida ex situ para la remoción de cromo hexavalente mediante *Solanum elaeagnifolium* Cav. y la aplicación de un campo eléctrico

Romero-Cervantes, M., García-Zúñiga, M., Castro-Salazar, J.I., López-Almanza, E.

A Heuristic proposal to minimize bottleneck and waiting time in a Flow Shop

Ireta-Sánchez, P.H., Martínez-López, R.

Publicación de la segunda etapa de artículos presentados en el 3er. Congreso Nacional de Ingeniería y Biotecnología Alimentaria 2021

Valorización del fruto de *Parmentiera aculeata* en nutrición animal: su uso como sustrato para el crecimiento de dos cepas probióticas

Acuña-Juárez, L., Aguilar-Zárate, P., Muñiz-Márquez, D.B., Wong-Paz, J.E., Veana, F.

Comparative study of polyphenol extraction from grapefruit (*Citrus paradisi*) peel using solid fermentation

de la Rosa-Hernández, M., Aguilar, C.N., Reyes-Munguía, A., Muñiz-Márquez D.B., Wong-Paz, J.E.

Influencia del consumo de amaranto en el perfil antropométrico y hematológico de niños en edad escolar con talla baja para su edad

Cano-Gómez, C.I., Veana, F., Calva-Cruz, O.J., Espitia-Rangel, E., Barba-de la Rosa, A.P.



Cintillo Legal

RIIT REVISTA INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN TECNOLÓGICA, Vol. 11, No. 62. Mayo - Junio 2023, es una publicación bimestral editada y publicada por Universidad Autónoma de Coahuila, boulevard Venustiano Carranza s/n colonia República Oriente, C.P. 25280, Saltillo, Coahuila, Tel. (844) 414 85 82, <https://riit.com.mx/>, correo electrónico: publicacionesriit@uadec.edu.mx. Editor responsable: Dra. Antonia Mtz. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo No. 04-2022-021512364600-102, ISSN: 2007-9753, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la última actualización de este número, Departamento de Divulgación y Comunicación Digital de la Dirección de Investigación y Posgrado de la UAdeC, Q.F.B. Fernando García, Edificio “D” planta alta, unidad Camporredondo, Saltillo, Coahuila, C.P. 25280, Tel. (844) 414 85 82, fecha de última modificación: 01 mayo 2023.

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación.

Queda prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin previa autorización de Universidad Autónoma de Coahuila.

Tabla de Contenido

Título artículo/ Autores	Páginas
Obtaining and evaluation of natural hair dye based on the green husk of <i>Juglans</i> sp. Galván-Santos, F.N., Amaya-Ramírez, C.R., González-Cortés, A., Casique-Valdés, R.	1 - 12
Al₂O₃ modificado con Zn²⁺ obtenido por el método sol-gel aplicado en la degradación de fenol por fotocatalisis heterogénea Aguilar-Martínez, O., Piña-Pérez, Y., Tzompantzi-Morales, F.	13 - 27
Electrofitorremediación: remediación híbrida ex situ para la remoción de cromo hexavalente mediante <i>Solanum elaeagnifolium</i> Cav. y la aplicación de un campo eléctrico Romero-Cervantes, M., García-Zúñiga, M., Castro-Salazar, J.I., López-Almanza, E.	28 - 43
A Heuristic proposal to minimize bottleneck and waiting time in a Flow Shop Ireta-Sánchez, P.H., Martínez-López, R.	44 - 65
Valorización del fruto de <i>Parmentiera aculeata</i> en nutrición animal: su uso como sustrato para el crecimiento de dos cepas probióticas Acuña-Juárez, L., Aguilar-Zárate, P., Muñiz-Márquez, D.B., Wong-Paz, J.E., Veana, F.	66 - 76
Comparative study of polyphenol extraction from grapefruit (<i>Citrus paradisi</i>) peel using solid fermentation de la Rosa-Hernández, M., Aguilar, C.N., Reyes-Munguía, A., Muñiz-Márquez, D.B., Wong-Paz, J.E.	77 - 89
Influencia del consumo de amaranto en el perfil antropométrico y hematológico de niños en edad escolar con talla baja para su edad Cano-Gómez, C.I., Veana, F., Calva-Cruz, O.J., Espitia-Rangel, E., Barba-de la Rosa, A.P.	90 - 101



Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica

Página principal: www.riit.com.mx

Obtaining and evaluation of natural hair dye based on the green husk of *Juglans* sp.

Obtención y evaluación de tinte natural para cabello con base en ruezno de nogal *Juglans* sp.

Galván-Santos, F.N.^a, Amaya-Ramírez, C.R.^a, González-Cortés, A.^b, Casique-Valdés, R.^{b*}

^a Estudiante de bachillerato Instituto de Ciencias y Humanidades Lic. Salvador González Lobo. Universidad Autónoma de Coahuila. Saltillo

^b Instituto de Ciencias y Humanidades Lic. Salvador González Lobo. Universidad Autónoma de Coahuila. Saltillo, Coahuila México. +52 844 434 0235.

Areli González Cortés ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1359-6099>.

Rebeca Casique Valdés ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0497-8255>.

flor.galvan@uadec.edu.mx; raul.amaya@uadec.edu.mx; areli.gonzalez@uadec.edu.mx; rebeca.casique@uadec.edu.mx

Technological innovation: Environmental innovation through the use of waste for ecological products.

Industry application area: This research focuses on the cosmetics industry and the dye industry.

Received: june 20th, 2022

Accepted: january 12th, 2023

Resumen

El ruezno o percarpio de nogal *Juglans* sp., es un desecho agrícola con fuente de compuestos orgánicos que aportan colorantes de forma natural. Estos pigmentos representan una alternativa a los productos de belleza que en su mayoría contienen alérgenos y carcinógenos. El objetivo del presente estudio fue evaluar la efectividad y pérdida de color de un colorante utilizando los extractos del pericarpio de *Juglans* sp. en mechones de cabello decolorado. Se obtuvieron extractos de pericarpio secos y molidos (10% p/v) a base de agua, etanol y metanol y se evaluaron en mechones de cabello decolorados con peróxido de hidrógeno. El cambio de color se evaluó utilizando la escala de Fisher-Saller asignando un número en lugar de una letra a cada mechón de cabello tratado. Los resultados de la escala modificada se evaluaron mediante análisis de varianza y se registró la pérdida de color lavando cada mechón 30 veces. Como resultados, no se encontró una pérdida de color significativa después de 30 lavados con detergente; tanto el extracto etanólico como el metanólico desarrollaron colores oscuros (U-Y en la escala de Fisher-Saller, 21-25), mientras que los extractos acuosos desarrollaron colores ceniza (M-O en la escala de Fisher-Saller, 13-15). No existe ningún tinte para el cabello

comercial a base de cáscara verde en el mercado. Esta investigación muestra una formulación semipermanente como una opción ecológica a los tintes sintéticos.

Palabras clave: *Aloe vera*, *Euphorbia antisiphilitica*, Fisher-saller, mordientes, colorante sintético.

Abstract

The green husk of *Juglans* sp., is an agricultural waste with a source of organic compounds that provide naturally coloring agents. Natural pigments represent an alternative to beauty products most of which contain allergens and carcinogens. The objective of this study was to evaluate the effectiveness and color loss of a dye using extracts from the pericarp of *Juglans* sp. in strands of bleached hair. Dried and ground pericarp extracts (10% w/v) based on water, ethanol, and methanol, were obtained and evaluated on bleached hair strands using hydrogen peroxide. Color change was assessed using the Fisher-Saller scale by assigning a number instead of a letter to each treated hair strand. The results of the modified scale were evaluated by analysis of variance and color loss was recorded by washing each strand 30 times. As results, no significant color loss was found after 30 washes with detergent; both ethanolic and methanolic extracts developed dark colors (U-Y on the Fisher-Saller scale, 21-25), while aqueous extracts developed ashy colors (M-O on the Fisher-Saller scale, 13-15). There is no commercial green peel-based hair dye on the market. This research shows a semi-permanent formulation as an ecological option to synthetic dyes.

Keywords: *Aloe vera*, *Euphorbia antisiphilitica*, Fisher-saller, mordants, synthetic dye.

1. Introduction

Some reports indicate that more than a third of women over the age of 18 and approximately 10% of men over the age of 40, use hair coloring products ^[1]. The use of hair dye is extremely common worldwide, this practice starts at very young age, and it has been reported that hair dyes are used excessively and incorrectly, most of the time people do not know about the risks associated with excessive hair dye use ^[2].

Synthetic hair dyes can generate adverse effects such as cancer, ^[3, 4] allergic reactions, ^[5] and skin diseases ^[6] in humans. Some of these products can cause toxicity ^[7] and mutagenicity, in the environment. Synthetic dyes contain high amounts of chemical compounds ^[8] compared to natural hair dyes. ^[9] The manufacturing process can be dangerous to the health of the employees ^[10] and could cause potential

residual effects to the final consumer, as well as beauty salon personnel involved in the application of hair dyes. Through the years, epidemiological studies have reported an increased risk of developing bladder cancer in hairdressers and barbers. ^[11,12] In a study conducted by IARC ^[13] concluded that some of the chemicals to which these workers are occupationally exposed are probably carcinogenic to humans. Some aromatic amines used in most synthetic dyes bind with DNA and are genotoxic ^[14]. The risk of developing cancer has been associated with the use of synthetic dyes; this is probably due to the oxidative mechanism of the components that may be involved in the carcinogenic trigger ^[15].

Hair dyes of natural origin have advantages over synthetic ones, since they are obtained from agricultural products and are a

renewable, biodegradable and non-toxic source. ^[16] In recent years, the demand among consumers of natural hair products has grown considerably; ^[17] most of these products are obtained from biological sources, especially plants. ^[18] It has been reported by Jahanban- Esfahlan ^[19] that walnut pericarp is often discarded and produced in large quantities, with little known uses ^[20]. In Mexico more than 30,000 tons of pecan husks are disposed annually, of which 5% is used and the remaining is eliminated ^[21]. Cosmulescu et al. ^[22] report that these residues can cause pollution and especially can be toxic to surrounding plant species and water bodies. Few reports indicate that the industrial use of this waste is for preparation of polymeric compounds, ^[19] coloring of various textile products and raw material for the cosmetic and pharmaceutical industries. ^[23, 24] Green husk (pericarps) could be a valuable source of natural compounds for hair dyeing because of its content of juglone, a brown pigment, ^[5] that appears naturally in roots, bark, leaves and husks of plants of the Juglandaceae family ^[25]. This work analyses the obtention of a semi-permanent hair dye product based on the green husk extract from aqueous, ethanolic or methanolic solvents that were combined with mordants and natural ingredients such as *Aloe vera* and candelilla wax.

2. Materials and methods

Biological Material

Dried and fresh pericarps (husks) were collected from the *Juglans* sp. walnuts orchard located in Ramos Arizpe Coahuila, Mexico. These were washed with running water for 10 minutes and dried afterwards in a laboratory oven at 40-50 °C for four days. After being dried, they were ground in a home blender, sieved, and stored in plastic zyploc ® plastic bags for extraction using different solvents.

Aqueous Extract

For the preparation of aqueous extracts, 20 g of ground pericarps were mixed with 200

mL of distilled water to obtain a final concentration of 10% (weight/volume, w/v). This mixture was placed in a baker and consequently boiled for 15 minutes while stirring continuously ^[26]. Then cooled at room temperature, covered with aluminium foil, and refrigerated for seven days. Once the standing time had passed, the mixture was filtered with a coffee maker filter.

Ethanolic Extract

The Methodology modified by Viera et al. ^[27] was followed using 5 g of ground pericarps dissolved in 50 mL of a mixture of 50% ethanol and 50% distilled water (v/v), with a final concentration of 10% (w/v). The mixture was placed under constant stirring for 15 minutes, then transferred to a container covered with aluminium foil and left to a room temperature setting for 7 days. The mixture was filtered using a coffee filter and then heated at a 60 °C for 10 minutes.

Methanolic Extract

The methanolic extract was obtaining using 5 g of ground pericarps into 50 mL of 98% methanol (Fermont ®) to a final concentration of 10% (w/v), the mixture was stirred for 10 minutes at room temperature and remained covered with aluminium foil for 7 days at 25 °C. After the standing time, the mixture was filtered with a coffee machine paper filter.

Mordant Solutions

A mordant solution was prepared using 4% (w/v) citric acid ^[26] for a final volume of 50 mL as well as the following solutions: 10% (w/v) potash alum, 3% (w/v) ferrous sulphate and 12% (w/v) ascorbic acid ^[5] separately. Each mixture was stirred for 10 minutes.

Aloe vera Gel

The leaves (shoots) of *A. vera* were collected, washed with tap water and then the epidermis we removed to obtain the hydro-parenchymatous gel, processed in a

home blender until we obtain a semi-solid consistency.

Bleach of Hair

Hair samples 15 cm long and approximately 4 mm in diameter, were collected from voluntary donors with dark brown hair. The Samples were bleached using 40 g of bleaching powder (Vezia ® Care Collection) and 60 mL of hydrogen peroxide cream 9% (30 vol) purchased from local stores. The strands were left 24 hours after we applying the hydrogen peroxide cream and wrapped in aluminium foil to generate heat. The strands were identified according to Fischer-Saller scale ^[28] to an extra light blonde or category A (Fig. 1). The samples were then rinsed under running water until the cream was removed.



Figure 1. Fisher-Saller scale, Evayanti and Artaria ^[28].

Evaluated Treatments

Hair dye mixtures were obtained by mixing the type of extract (ground pericarps with water, ethanol, or 10% w/v methanol), mordant solution (ascorbic acid 12%, citric acid 4%, ferrous sulphate 3%, potassium alum 10%) and *Aloe vera* gel according to Beiki et al. ^[5] A total of 7 treatments were evaluated; Table 1 shows the percentages of the amounts used. Once mixtures were prepared, the hair strands were immersed in each treatment for 45 minutes, then rinsed with water for 30 seconds or until the residual water was crystallized. This procedure was repeated in triplicate for each treatment. The Dyed strands were left to dry at room temperature for one day. After that time, the samples were washed intensively with 28% sodium lauryl ether sulphate (SLES) and rinsed under running water; this procedure was repeated 30 times for each treatment. At the end, they were left to dry at room temperature.

Table 1. Dyeing mixtures (treatments) of pericarp extracts, according to the amount and type of solvent, mordants and color developers used in hair strands.

Treatment	Ethanol extract 10% (w/v)	Aqueous extract 10% (w/v)	Methanol extract 10% (w/v)	<i>Aloe vera</i> gel	Ferrous sulphate 3% (w/v)	Ascorbic acid 12% (w/v)	Potash alum 10% (w/v)	Citric acid 4% (w/v)
1	3 mL	0 mL	0 mL	2 mL	2 mL	4 mL	0 mL	0 mL
2	0 mL	0 mL	3 mL	2 mL	2 mL	4 mL	0 mL	0 mL
3	0 mL	3 mL	0 mL	2 mL	2 mL	4 mL	0 mL	0 mL
4	3 mL	0 mL	0 mL	2 mL	2 mL	0 mL	2 mL	4 mL
5	0 mL	0 mL	3 mL	2 mL	2 mL	0 mL	2 mL	4 mL
6	0 mL	3 mL	0 mL	2 mL	2 mL	0 mL	2 mL	4 mL
Control	0 mL	0 mL	0 mL	0 mL	0 mL	0 mL	0 mL	0 mL

Hair Color Evaluation

To verify the degree of coloration, comparisons were made by matching treatments against the Fischer-Saller scale proposed by Birngruber and Verhoff^[28] and Evayanti and Artaria^[29] (Fig. 1) and converting the letter designations to numbers. In physical anthropology, The Fischer-Saller scale is made up of thirty strands of human hair. In general, it is detailed as follows: A (1) = blond, B-E (2-5) = light blond (straw), F-L (6-12) = blond, M-O (13-15) = dark blond, P-T (16-20) = light brown to brown, U-Y (21-25) = dark brown to black, I-IV (26-29) = reddish, V-VI (29-30) = reddish blond. The control treatment was a bleached strain classified as A (1) as very light blond. Once the evaluation was concluded, an analysis of variance (ANOVA) was performed ($p < 0.05$) with number of colors assigned on the Fisher-Saller scale, then, a Tukey's HSD Test for multiple comparisons was done in R software 4.1.2 version^[30].

Formulation

The treatment with the most intense coloration (U-Y or 21-25 numeration) was chosen for final formulation of 20 mL. The

formula consisted of 6 mL of extract, 4 mL of *Aloe vera*, 4 mL of 3% ferrous sulphate and 6 mL of 12% ascorbic acid with 1.86% (w/v) xanthan gum, 5.21% (w/v) candelilla wax and 5.21% (w/v) coconut oil. The last two ingredients (coconut oil and candelilla wax) were melted at 50 °C on a stirring plate and xanthan gum was added; Finally, the dye was added to the mixture and stirred manually. The formulated treatment was applied using a brush to a bleached strand of hair, emulating salon dye application, then the sample was left to rest on aluminium foil for 45 minutes. After the time had elapsed, the sample was washed with running tap water. This procedure was performed by triplicate and the final sample was intensively washed with SLES 28% and rinsed under running water. The obtained formula was compared to the control (bleached strains) and with a synthetic Schwarzkopf® dye (light brown nude-563) using the same methodology described above.

3. Results

All evaluated treatments were highly significant different compared to the control (natural blonde, 1 ± 0.00). Treatment 1,

induced the darkest color results (22.66 ± 0.57) classified as dark brown to black in the Fisher-Saller scale (W); it was observed that mixtures with ascorbic acid and ferrous sulphate in combination with *A. vera* gel mixed with the three different types of extracts, ethanolic, methanolic and aqueous solvents (22.6, 19.6 and 13.0 respectively) induced darkest colors than the use of citric acid, potassium alum, and ferrous sulphate in combination with *A. vera* gel in ethanol, methanol, and water solvents (16.3, 14.3 and 11.3 respectively) (Fig. 2- Fig. 4).



Figure 2. Control= bleached hair strains with hydrogen peroxide, Trat 1= treatment 1 with 10% ethanolic extract *Juglans* sp., ferrous sulphate 3%, ascorbic acid 12% and *A. vera*, Trat 4= treatment 4 with 10% ethanolic extract *Juglans* sp., ferrous sulphate 3%, potassium alum 10%, citric acid 4% and *A. vera*.

It has been proven that the treatments with 3% ferrous sulphate, 12% ascorbic acid and *A. vera* as mordants (treatments 1,2 and 3) presented more intensive coloration after 30 washes with 28% sodium lauryl ether sulphate and were highly significant different than those that were treated with 4% citric acid, 10% potassium alum, 3% ferrous sulphate, and *A. vera* (treatments 4,5 and 6) (Table 2).

Table 2. Hair dyeing results obtained according to Fisher-Saller scale and assigned numeration after 30 washes with 28% sodium lauryl ether sulphate.

Treatment	Assigned number	Tukey HSD	Fisher-Saller scale letter
Control	1 $\pm$ 0.00	e	A= very light blond
1	22.66 $\pm$ 0.57	a	W= dark brown to black
2	19.66 $\pm$ 2.08	ab	T= light brown to brown
3	13.0 $\pm$ 1.00	cd	M= dark blond
4	16.33 $\pm$ 1.52	bc	P= light brown to brown
5	14.33 $\pm$ 3.21	cd	N= dark blond
6	11.33 $\pm$ 1.52	d	K= blond
Formulation	17 $\pm$ 2.6	bc	Q= light brown
Synthetic dye	17 $\pm$ 1.0	bc	Q= light brown

ANOVA, Tukey's multiple comparison test (significance $p < 0.05$).

The best result was obtained with the use of ethanolic extract of *Juglans* sp. pericarps 10% (w/v) in a mixture of ferrous sulphate 3%, ascorbic acid 12% and *A. vera* gel (treatment 1). Dark brown to black colors were obtained in the dyed strains; however, there was no statistical difference with the use of treatment 1 and treatment 2 (methanolic extract of *Juglans* sp. Pericarps

10% w/v, ferrous sulphate 3%, ascorbic acid 12% and *Aloe vera* gel) where light brown to brown colors were obtained in hair strains. Slight coloration was observed when using the aqueous extracts of the *Juglans* sp. pericarps (10% w/v) with results of dark blond with ferrous sulphate, ascorbic acid, and *A. vera*, treatment 3) and blond when ferrous sulphate, citric acid,

potash alum and *A. vera* mixture was evaluated (treatment 5 and 6).



Figure 3. control= bleached hair strains with hydrogen peroxide, Trat 2= treatment 2 with 10% methanolic extracts of *Juglans* sp., ferrous sulphate 3%, ascorbic acid 12% and *A. vera*, Trat 5= treatment 5 with 10% methanolic extract of *Juglans* sp., ferrous sulphate 3%, potassium alum 10%, citric acid 4% and *A. vera*.



Figure 4. control= bleached hair strains with hydrogen peroxide, Trat 3= treatment 3 with 10% aqueous extract of *Juglans* sp., ferrous sulphate 3%, ascorbic acid 12% and *A. vera*, Trat 6= treatment 6 with 10% aqueous extract of *Juglans*, ferrous sulphate 3%, potassium alum 10%, citric acid 4% and *A. vera*.



Figure 5. Color comparison with a= synthetic dye (Schwarzkopf®, light brown nude color); b= cream formulated with *Juglans* sp ethanol extract after 30 washes with 28% sodium lauryl ether sulphate.

There was no statistical difference between the use of aqueous extract of *Juglans* sp. (treatment 3, dark blond), when compared to the methanolic extract of *Juglans* sp. (treatment 5, dark blonde) (Table 2). The formula in treatment 1, was obtained using an emulsion of candelilla wax, xanthan gum and coconut oil (see methodology), however, the intensity of the color was diminished when combined with these ingredients (Fig. 5). Color results using the formula of ethanolic extract, varied from treatment 1 (22.6 ± 0.57) to 17 ± 2.6 on the modified Fisher-Saller scale. No statistical difference was found between the ethanolic extract formula (17 ± 2.64) compared to synthetic dye schwarzkopf® (17 ± 1.0) developing light brown to brown colors according to Fisher-Saller scale.

The stability of the formula was considered by leaving it in a sealed glass bottle and placed in a cabinet at a temperature not higher than 30 °C, it was found that after 8 months of storage, this mixture did not lose effectiveness in tests on bleached hair strands.

4. Discussion

It has been reported that the main component of the plant responsible for the color is the juglone, that belongs to the

Juglandaceae family, contains numerous bioactive polyphenolic groups quercetin and juglone, which is found in various parts, such as leaves, husk and bark ^[31]. Jahanban-Esfahlan ^[19], recapitulated the uses and chemical constituents of the walnut nut, some records about its compounds are the content of phenols, flavonoids, hydroxybenzoic acid, hydroxycinnamic acid, ellagitannins and gallotannins.

There were few limitations throughout the general research of this work, starting with the collection of the biological material such as *A. vera* and pericarps. In this study, *A. vera* was assessed as a color enhancer, however, the mucilage obtained from this plant varies in concentration determined by the variety of the species and the climatic conditions when it is collected. Significant differences have been reported in the composition and concentration of the active compounds found in the genus *Aloe* sp., ^[32,33] in addition, the age of the plant can affect the concentration of active principles, as mature leaves have higher concentration than younger ones.

Some tests (not mentioned in the methodology part) were carried out to find out the concentration of mucilage extracted from *A. vera*. Some samples were taken in spring, summer, and winter, finding that specimen from summer had higher density than the winter sample; *Juglans* extract dyed *A. vera* mucilage collected in summer, instead of the hair strand. The plant used in this study was not identified taxonomically or molecularly. Another point to note is the collection of pericarps, since it was evaluated with freshly collected pericarps, and the waste is not generated all year round, so it is necessary to wait to obtain this material. In a study by Lee ^[34], the authors found significant variations in juglone content during the four-month period in an Ohio cultivar and in seedlings. The leaves of seedlings in July contained Juglone at their maximum levels and in

September at their minimum level. Another fact to consider is the storage of the husks; it reveals the need for further research on pericarps to find if there is a variation in the dye obtention from different collected samples over the years.

Another limitation is the lack of knowledge on beauty techniques, which is why we lengthened the time for discoloring the samples, a situation that generally occurs in 45 minutes to an hour. It would be convenient to continue dyeing the hair sample with different degrees of discoloration to identify its effectiveness in people who currently use a synthetic dye or who stopped dyeing at a certain time.

In the present study, the ethanolic and methanolic treatments presented the darkest colors results, while the aqueous treatments presented lighter ashy colors. It was found that the addition of alum to the mixtures conferred lighter and greenish tones. There are reports of other mordants of natural origin that can be used ^[35,36] but, potassium alum, *A. vera* and ferrous sulphate has been utilized as mordants due to their eco friendliness compared to other commonly used metal salt mordants ^[35,37] however, the intensity of the color was lighter than with the application of the liquid extracts without the addition of emulsifiers. When comparing the obtained color from the formulation with a commercial dye (Schwarzkopf ®) purchased in the supermarket, the ash characteristic was similar in both products although the ingredients of the synthetic dye are hydrogen peroxide, ammonium hydroxide, ammonia, potassium hydroxide, diamino-toluenes, the product package warns about the possible cause of irritation or allergy in some people. In addition, over 5000 different types of chemicals are used in hair dyes, some have been described as carcinogenic in animals. ^[11, 38] Due to its extent use, scientists have tried to determine if the exposure to the chemicals used in hair dye products, is linked to increased cancer

risk in people. Most chemical dyes contain ammonia, acetic acid, hydrogen peroxide, ammonium hydroxide, 2-methyl resorcinol, p-aminophenol, cetaret, crotein Q and toluenes, substances that cause nasal disorders and irritant-type contact dermatitis^[39]. Patel et al.^[6], quotes that the frequent use of hair dyes, increases allergies due to their chemical content; itchy scalp, hair loss and breakage, redness on the scalp, conjunctivitis, pigmentation, and headaches. It may also increase the risk of cancer^[3].

The ingredients of this study were chosen to support small-scale producers dedicated to the use of candelilla, a plant from the Chihuahuan desert. For many of these producers, the use of candelilla represents their only source of income. It has multiple industrial uses, including the production of paints, polishes, candles, leather products, cosmetics, disposable containers, wax paper and electronic items^[40].

5. Conclusions

The effectiveness of extracts of green husks of *Juglans* sp. used as natural dyes on bleached hair strands was evaluated. It was found that ethanolic and methanolic extracts developed the darkest colors. No significant color loss was found in the treated hair after 30 washes with detergent. The proposed formula consists of natural ingredients such as: *A. vera*, *Juglans* sp. extract, vitamin C (ascorbic acid), and ferrous sulphate, materials that have been reported to be sustainable. Hair dye based on green walnut shells are not available in the market. There is scattered information about the use of pecan leaves, shell, and bark in infusions, however, few studies report the use of pecan in the cosmetic industry. The tests carried out for the evaluation of this product show that it is possible to dye hair with pecan extract using mordants of either natural origin or low ecological footprint.

6. Acknowledgements

Thanks to the Instituto de Ciencias y Humanidades Lic. Salvador González Lobo for the space granted to carry out the tests.

7. References

- [1] Huncharek, M.; Kupelnick, B. Personal use of hair dyes and the risk of bladder cancer: results of a meta-analysis. *Public Health Rep.* 2005, 120, 31–38. DOI: 10.1177/003335490512000107.
- [2] AlGhamdi, K. M.; Moussa, N. A. Knowledge and practices of, and attitudes towards, the use of hair dyes among females visiting a teaching hospital in Riyadh, Saudi Arabia. *Ann. Saudi Med.* 2011, 31, 613–619. DOI: 10.4103/0256-4947.87099.
- [3] Kim, K. H.; Kabir, E.; Jahan, S. A. The use of personal hair dye and its implications for human health. *Environ. Int.* 2016, 89-90, 222–227. DOI:10.1016/j.envint.2016.01.018.
- [4] Zhang, Y.; Birmann, B. M.; Han, J.; Giovannucci, E.; Speizer, F. E.; Stampfer, M. J.; Rosner, B. E.; Schernhammer, E. S. Personal use of permanent hair dyes and cancer risk and mortality in US women: prospective cohort study. *BMJ.* 2020, 370. DOI:10.1136/bmj.m29422.
- [5] Beiki, T.; Najafpour, G. D.; Hosseini, M. Evaluation of antimicrobial and dyeing properties of walnut (*Juglans regia* L.) green husk extract for cosmetics. *Color. Technol.* 2018, 134, 71–81. <https://doi.org/10.1111/cote.12322>
- [6] Patel, D.; Narayana, S.; Krishnaswamy, B. Trends in use of hair dye: A cross-sectional study. *Int. J. Trichology.* 2013, 5, 140. DOI: 10.4103/0974-7753.125610.
- [7] Abe, F. R.; Mendonça, J. N.; Moraes, L. A. B.; de Oliveira, G. A. R.; Gravato, C.; Soares, A. M. V.; Oliveira, D. P. Toxicological and behavioral responses as a tool to assess the effects of natural and synthetic dyes on zebrafish early life. *Chemosphere.* 2017, 178, 282–290. DOI:10.1016/j.chemosphere.2017.03.030.
- [8] Lind, M. L.; Boman, A.; Sollenberg, J.; Johnsson, S.; Hagelthorn, G.; Meding, B. Occupational dermal exposure to

permanent hair dyes among hairdressers. *Ann Occup Hyg.* 2005, 49, 473-480. DOI: 10.1093/annhyg/mei030.

[9] Carvalho, M.; Ferreira, P. J.; Mendes, V. S.; Silva, R.; Pereira, A.; Jerónimo, C.; Silva, B. M. Human cancer cell antiproliferative and antioxidant activities of *Juglans regia* L. *Food Chem. Toxicol.* 2010, 48, 441-447. DOI:10.1016/j.fct.2009.10.043.

[10] Mendelsohn, J. B.; Ji, Q. Z.; Li, B. T.; Shu, X. O.; Yang, G.; Li, H. L.; Zheng, W. Personal use of hair dye and cancer risk in a prospective cohort of Chinese women. *Cancer Sci.* 2009, 100, 1088-1091. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2009.01149.x>.

[11] Bolt, H. M.; Golka, K. The debate on carcinogenicity of permanent hair dyes: new insights. *Crit. Rev. Toxicol.* 2007, 37, 521-536. DOI: 10.1080/10408440701385671.

[12] Harling, M.; Schablon, A.; Schedlbauer, G.; Dulon, M.; Nienhaus, A. Bladder cancer among hairdressers: a meta-analysis. *Occup. Environ. Med.* 2010, 67, 351-358. DOI: 10.1136/oem.2009.050195.

[13] IARC. International Agency for Research on Cancer. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic of some aromatic amines and related compounds. 2020. Retrieved from: 127. https://www.iarc.who.int/wp-content/uploads/2020/06/QA_Monographs_Volume-127.pdf (Accessed on April 5, 2022).

[14] IARC, International Agency for Research on Cancer. Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC monographs. 1987, 42, 53. (p. 53). Lyon, France: IARC.

[15] Ali, A.; Shaziya-Allarakha, M., Shamila, F.; Amaan, S.; Habib, S. Risk of Carcinogenicity Associated with Synthetic Hair Dyeing Formulations: A Biochemical View on Action Mechanisms, Genetic Variation and Prevention. *Ind J Clin Biochem.* 2022. 37, 399-409. <https://doi.org/10.1007/s12291-022-01051-x>

[16] Boonsong, P.; Laohakunjit, N.; Kerdchoechuen, O. Natural pigments from six species of Thai plants extracted by water for hair dyeing product application. *J. Clean. Prod.* 2012, 37, 93-106. DOI:10.1016/j.jclepro.2012.06.013.

[17] Adeel, S.; Abrar, S.; Kiran, S.; Farooq, T.; Gulzar, T.; Jamal, M. Sustainable Application of Natural Dyes in Cosmetic Industry. Handbook of Renewable Materials for Coloration and Finishing, Scrivener publishing. 2018, 189-190. DOI: 10.1002/9781119407850. ISBN:9781119407850.

[18] Diarsa, M.; Gupte, A. Optimization and Extraction of Natural Dye from *Tagetes Erecta* and Dyeing of Cotton and Silk Fabric Using Banana (*Musa* sp.) Pseudo Stem Sap. *J. Nat. Fibers.* 1-13. DOI:10.1080/15440478.2020.1863291.

[19] Jahanban-Esfahlan, A.; Ostadrahimi, A.; Tabibiazar, M.; Amarowicz, R. A comprehensive review on the chemical constituents and functional uses of walnut (*Juglans* spp.) husk. *Int. J. Mol. Sci.* 2019, 3920.

<https://doi.org/10.3390/ijms20163920>.

[20] Fernández-Agulló, A., E. Pereira, M.S. Freire, P. Valentão, P.B. Andrade, J. González-Álvarez and J.A. Pereira. 2013. Influence of solvent on the antioxidant and antimicrobial properties of walnut (*Juglans regia* L.) green husk extracts. *Ind Crops Prod.* 42: 126-132. DOI:10.1016/j.indcrop.2012.05.021

[21] Sánchez-Mirón, B. W.; Roux-Gutiérrez, R. S.; Molar-Orozco, M. E. Alternative material for load-bearing wall with addition of walnut shell. Waste Reduction. In: Proceedings of the 3rd International Congress on Sustainable Construction and Eco-Efficient Solutions. 2017, 1023-1034. Universidad de Sevilla. Escuela Técnica Superior de Arquitectura.

[22] Cosmulescu, S. N.; Trandafir, I.; Achim, G.; Baci, A. Juglone content in leaf and green husk of five walnut (*Juglans regia* L.) cultivars. *Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Napoca.* 2011, 39, 237-240.

- [23] Akbari, V.; Jamei, R.; Heidari, R.; Esfahlan, A. J. Antiradical activity of different parts of Walnut (*Juglans regia* L.) fruit as a function of genotype. *Food Chem.* 2012, 135, 2404–2410. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.07.030.
- [24] Sadeghi-Kiakhani, M.; Tehrani-Bagha, A. R.; Gharanjig, K.; Hashemi, E. Use of pomegranate peels and walnut green husks as the green antimicrobial agents to reduce the consumption of inorganic nanoparticles on wool yarns. *J. Clean. Prod.* 2019, 231, 1463–1473. DOI: 10.1016/j.jclepro.2019.05.283.
- [25] Wenzel, J.; Storer-Samaniego, C.; Wang, L.; Burrows, L.; Tucker, E.; Dwarshuis, N.; Zand, A. Antioxidant potential of *Juglans nigra*, black walnut, husks extracted using supercritical carbon dioxide with an ethanol modifier. *Food Sci. Nutr.* 2017, 5, 223–232. DOI:10.1002/fsn3.385.
- [26] Shaukat, A.; Munazza, M.; Muhammad, T. H. Efficacy of Some Plants Extracts for Natural Dyeing of Human Hair. *J. Nat. Fibers.* 2020, 1–15. DOI:10.1080/15440478.2020.1821280.
- [27] Vieira, V.; Pereira, C.; Abreu, R. M.; Calhelha, R.; Alves, M. J.; Coutinho, J. A.; Ferreira, C. Hydroethanolic extract of *Juglans regia* L. green husks: A source of bioactive phytochemicals. *Food Chem. Toxicol.* 2020, 137, 111189. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111189>.
- [28] Birngruber, C.; Verhoff, M. A. The color of human hair. In: Preedy, V. R. ed. *Handbook of Hair in Health and Disease*. Wageningen Academic Publishers. 2012, 30–49. DOI:10.3920/978-90-8686-728-8_2.
- [29] Evayanti, L.G.; Artaria, M. D. 2019. Understanding the Characteristics of Physical Color in Human—an Article Review. Proceedings of the 1st international conference of social science. ICOS 2018. Universitas Warmadewa, Denpasar, Bali-Indonesia. pp. 227. Doi:10.4108/eai.21-9-2018.2281158.
- [30] R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2020, <https://www.R-project.org/>. (Accessed on March 25, 2022).
- [31] Arifeen, W.; Rehman, F. U.; Adeel, S.; Zuber, M.; Ahmad, M. N.; Ahmad, T. Environmental friendly extraction of walnut bark-based juglone natural colorant for dyeing studies of wool fabric. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2021, 28, 49958–49966. doi:10.1007/s11356-021-14277-8
- [32] van Wyk, B. E.; van Rheed, M. C.; van Oudtshoorn, G. F.; Smith, G. F. 1995. Geographical variation in the major compounds of *Aloe ferox* leaf exudate. *Planta medica.* 61, 250–3. DOI: 10.1055/s-2006-958066.
- [33] Yagi, A.; Tsunoda, M.; Egusa, E.; Akasaki, A.; Tsuji, H. Immunochemical distinction of *Aloe vera*, *A. Arborescens* and *A. Chinensis* gel. *Planta Medica*, 1998, 64, 277–278. DOI: 10.1055/s-2006-957427. PMID: 9581527.
- [34] Lee, K.C. Nature and occurrence of juglone in *Juglans nigra* L. A Master's thesis dissertation. 1967, Kansas State University.
- [35] Ali, S.; Maqbool, M.; Hussain, M. T. Efficacy of Some Plants Extracts for Natural Dyeing of Human Hair. *J. Nat. Fibers.* 2020, 1–15. DOI:10.1080/15440478.2020.1821280.
- [36] Burkinshaw, S.M.; Kumar, N. The mordant dyeing of wool using tannic acid and FeSO₄, Part 1: Initial findings. *Dyes Pigm.* 2009, 80, 53–60. doi:10.1016/j.dyepig.2008.05.008.
- [37] Chairat, M.; Darumas, U.; Bremner, J. B.; Bangrak, P. Dyeing of cotton yarn with the aqueous extract of the leaves of *Eupatorium odoratum* L. in Thailand and associated extract toxicity studies. *Color. Tech.* 127(5): 346–353. DOI:10.1111/j.1478-4408.2011.00321.x.
- [38] de Sanjosé S.; Benavente, Y.; Nieters, A.; Foretova, L.; Maynadié, M.; Cocco, P. L.; Stainers, A.; Vornanen, M.; Boffetta, P.; Becker, N.; Alvaro, T.; Brennan, P. Association between personal use of hair dyes and lymphoid neoplasms in Europe. *Am J. Epidemiol.* 2006, 164, 147–55.

- [39] Caraballo-Arias, Y.; Rodríguez, A. R.; Rivero, A. J.; Rangel, R. G.; Barrios-Covaro, M. Riesgos laborales en trabajadores de barberías y peluquerías de economía informal: Caracas, Venezuela. *Ciencia y Trabajo*, 2013, 15(46), 18–23. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-24492013000100005>
- [40] Bañuelos-Revilla, J. E.; Palacio-Núñez, J.; Martínez-Montoya, J. F.; Olmos-Oropeza, G.; Flores-Cano, J. A. Distribución potencial y abundancia de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica*) en el norte de Zacatecas, México. *Madera y bosques*, 2019, 25(1), e2511657. <https://doi.org/10.21829/myb.2019.251165>



Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica

Página principal: www.riit.com.mx

Al₂O₃ modificado con Zn²⁺ obtenido por el método sol-gel aplicado en la degradación de fenol por fotocatalisis heterogénea

Al₂O₃ modified with Zn²⁺ obtained by the sol-gel method applied to phenol degradation by heterogeneous photocatalysis

Aguilar-Martínez, O.^{a,b}, Piña-Pérez, Y.^{c*}, Tzompantzi-Morales, F.^d

^a Departamento de Biociencias e Ingeniería, Centro Interdisciplinario de Investigaciones y Estudios Sobre Medio Ambiente y Desarrollo (CIIEMAD), Instituto Politécnico Nacional, La Laguna Ticomán, Gustavo A. Madero, C.P. 07340, CdMx, México.

^b Académica de Química. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería y Ciencias Sociales y Administrativas, Instituto Politécnico Nacional, Granjas México, Iztacalco, C.P. 08400, CdMx, México.

^c Laboratorio de Fotocatálisis, Instituto Politécnico Nacional, CICATA-Legaria, Legaria 694, Col. Irrigación, 11500, CdMx, México.

^d Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, División de CBI, Depto. de Química, Av. San Rafael Atlixco 186, México 09340, CDMX, México.

octavio_aguilar6@hotmail.com; yanet_25@live.com.mx*; fjtz@xanum.uam.mx

Innovación tecnológica: Diseño y síntesis de materiales a base de Al₂O₃ eficientes para la degradación de contaminantes fenólicos.

Área de aplicación industrial: Degradación de contaminantes orgánicos altamente tóxicos provenientes de aguas residuales mediante fotocatalisis.

Recibido: 27 junio 2022

Aceptado: 25 enero 2023

Abstract

The design and synthesis of modified Al₂O₃ with different Zn²⁺ contents (0.5, 1.0, and 2.0% mass) was proposed, the materials were labeled as AZn05, AZn1, and AZn2, respectively. The preparation of the materials was carried out by the sol-gel synthesis method and they were applied in the degradation and mineralization of phenol in aqueous medium by heterogeneous photocatalysis. The materials were characterized by X-ray diffraction, UV-Vis diffuse reflectance spectroscopy, nitrogen physisorption, and photoluminescence. On the other hand, phenol degradation and mineralization were quantified by UV-Visible spectroscopy and total organic carbon, respectively. The photocatalytic evaluation showed that the unmodified Al₂O₃ gave a phenol degradation percentage of 67% and a mineralization of 59%. However, the addition of Zn²⁺

in alumina improved its photocatalytic efficiency, and it was observed that the most efficient material was AZn1 with a degradation and mineralization percentage of 79% and 68%, respectively. This finding shows that the incorporation of low concentrations of Zn^{2+} into Al_2O_3 has an effect on the increase of vacancies, promoting a higher photocatalytic efficiency than unmodified Al_2O_3 , furthermore, photoluminescence analysis shows that the addition of Zn^{2+} decreases the recombination of the photogenerated pair e^-h^+ .

The synthesis of novel materials based on Al_2O_3 opens an important gap for its study in photocatalysis since it has been little explored, in addition, its application in the remediation of contaminated water addresses a national problem that aims to mitigate the problems of water pollution.

Keywords: $\text{Al}_2\text{O}_3:\text{Zn}^{2+}$, phenol degradation, photocatalysis, sol-gel synthesis, UV light.

Resumen

Se propuso el diseño y síntesis de Al_2O_3 modificado con diferentes contenidos de Zn^{2+} (0.5, 1.0 y 2.0% en masa), los cuáles fueron etiquetados como AZn05, AZn1 y AZn2, respectivamente. La preparación de los materiales se llevó a cabo por el método de síntesis sol-gel y fueron aplicados en la degradación y mineralización de fenol en medio acuoso por fotocátalisis heterogénea. Los materiales fueron caracterizados por difracción de rayos-X, espectroscopía de reflectancia difusa UV-Vis, fisisorción de nitrógeno y fotoluminiscencia. Por otro lado, la degradación y mineralización de fenol fue cuantificada por espectroscopía UV-Vis y carbono orgánico total, respectivamente. La evaluación fotocatalítica mostró que el Al_2O_3 sin modificar presentó un porcentaje de degradación de fenol del 67% y una mineralización del 59%. Sin embargo, la adición de Zn^{2+} en alúmina mejoró su eficiencia fotocatalítica, se observó que, el material más eficiente fue AZn1 con un porcentaje de degradación y mineralización del 79% y 68%, respectivamente. Estos resultados demuestran que la incorporación de bajas concentraciones de Zn^{2+} en Al_2O_3 , tiene un efecto en el incremento de vacancias promoviendo una eficiencia fotocatalítica superior que Al_2O_3 sin modificar, además, el análisis por fotoluminiscencia muestra que la adición de Zn^{2+} disminuye la rapidez de recombinación del par fotogenerado e^-h^+ .

La síntesis de materiales novedosos a base de Al_2O_3 abre una brecha importante para su estudio en fotocátalisis ya que ha sido poco explorado, además, su aplicación en la remediación de aguas contaminadas atiende a un problema nacional que pretende mitigar los problemas de contaminación en agua.

Palabras clave: $\text{Al}_2\text{O}_3:\text{Zn}^{2+}$, degradación de fenol, fotocátalisis, luz UV, síntesis sol-gel.

1. Introducción

El desarrollo del presente trabajo de investigación tiene el propósito de obtener

materiales que sean fotoactivos bajo iluminación UV aplicados a la degradación de fenol vía fotocatalítica. Recientemente, se

ha demostrado que el Al_2O_3 es un material que tiene propiedades fotocatalíticas en la degradación de compuestos fenólicos, por lo que el objetivo de este trabajo es mejorar su fotoactividad mediante la adición de impurezas de Zn^{2+} en la red cristalina. Existe una amplia variedad de productos químicos que contribuyen a la contaminación del agua. Los compuestos fenólicos generalmente se encuentran en las aguas residuales de industrias como refinerías de petróleo, plásticos, tintes, textiles, productos farmacéuticos, detergentes, herbicidas y pesticidas [1,2]. Los compuestos fenólicos y sus derivados son difícilmente biodegradables y presentan características tóxicas para los seres vivos. El valor máximo admisible de fenol en agua potable es de 5 $\mu\text{g/L}$ y la exposición prolongada de fenol puede producir secuelas como respiración irregular, debilidad muscular, coma, paros respiratorios e incluso cáncer [3]. No obstante, la fotocatálisis heterogénea, es una tecnología en potencial desarrollo que permite la mineralización de contaminantes orgánicos en medio acuoso empleando materiales semiconductores. Cuando la energía del fotón ($h\nu$) que incide sobre un semiconductor es mayor o igual que la energía de la banda prohibida (E_g), los electrones de la banda de valencia (BV) serán promovidos a la banda de conducción (BC). Este proceso tiene como objetivo la producción del par electrón-hueco (e^-h^+), estos portadores de carga migran hacia la superficie del material. Por un lado, el electrón reduce a la molécula de oxígeno, mientras que, el hueco oxida a la molécula de agua y a los grupos hidroxilo adsorbidos en la superficie del fotocatalizador, este paso es crucial para la formación de radicales oxidantes que serán los iniciadores de la degradación del contaminante orgánico.

Se han usado diversos fotocatalizadores de tipo semiconductor para la eliminación de compuestos fenólicos como TiO_2 [4], ZnO ,

Fe_2O_3 , CdO , SnO_2 , [5], entre otros. Sin embargo, se han estudiado materiales que poseen una energía de banda prohibida mayor a 3.5 eV (materiales con propiedades aislantes) que han sido fotoactivos para la degradación de contaminantes orgánicos, por ejemplo: SiO_2 , MgO , CaO y Al_2O_3 [6–8]. En este caso particular, la actividad fotocatalítica se lleva a cabo por los defectos superficiales intrínsecos del fotocatalizador y por la formación de complejos entre el contaminante y la superficie del material, dando como consecuencia, la formación de radicales activos en la interfase del sólido [9]. Dichos sistemas pueden considerarse como una nueva clase prometedora de fotocatalizadores capaces de iniciar transformaciones fotoquímicas y fotocatalíticas de moléculas adsorbidas bajo iluminación, no solo con luz ultravioleta, sino también con luz visible. Naturalmente, la excitación de los sitios superficiales capaces de absorber luz en esta región espectral es el factor clave para lograr la reacción foto-inducida. Recientemente, se ha encontrado que Al_2O_3 presenta actividad fotocatalítica bajo luz UV [10,11]. Este material es muy atractivo para su uso como fotocatalizador por sus propiedades fisicoquímicas y su bajo costo de producción. Existen materiales fotocatalíticos reportados en la literatura donde el óxido de aluminio se usa como soporte con uno o más materiales semiconductores, a continuación se mencionan los más representativos: $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-F}_2\text{O}_3$ [12], $\text{CeO}_2/\text{MgO-Al}_2\text{O}_3$ [13], $\text{PdO/Al}_2\text{O}_3\text{-Nd}_2\text{O}_3$ [14], $\text{V}_2\text{O}_5/\text{Al}_2\text{O}_3$ [15], $\text{ZnO/Al}_2\text{O}_3\text{-Fe}_2\text{O}_3$ [16], $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-ZnO}$ [17], $\text{WO}_x/\text{Al}_2\text{O}_3$ [18], $\text{TiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ [19], $\text{ZnO/Al}_2\text{O}_3$ [20], etc.

Por otro lado, el óxido de zinc (ZnO) es un material semiconductor con una energía de banda prohibida de 3.2 eV [21], exhibe una actividad fotocatalítica eficiente, e incluso, se ha demostrado que presenta una fotoactividad superior que el TiO_2 para la mineralización de

compuestos fenólicos en medio acuoso [5,22,23]. El propósito de este trabajo es mejorar la actividad fotocatalítica de Al_2O_3 adicionando pequeñas cantidades de Zn^{2+} (0.5, 1.0 y 2.0 % en masa) sobre Al_2O_3 con el

objetivo de obtener materiales altamente eficientes en la mineralización de fenol. En la Tabla 1 se reportan los resultados obtenidos por otros investigadores en donde se emplea materiales a base de Al_2O_3 en fotocatalisis.

Tabla 1. Trabajos reportados con aplicación en la eliminación de compuestos orgánicos por fotocatalisis empleando materiales a base de Al_2O_3 .

Material	Síntesis	Molécula orgánica degradada por fotocatalisis	Lámpara	Referencia
Al_2O_3	Reacción en estado sólido	Alcohol bencílico	Luz led blanca	[24]
$\text{ZnO}/\text{Al}_2\text{O}_3$	Pirólisis por pulverización ultrasónica	Azul de metileno	UV-254 nm	[25]
$\text{CeO}_2\text{-Al}_2\text{O}_3$	Sonicación y tratamiento térmico	Azul de metileno	Lámpara de halógeno	[26]
Al_2O_3 dopado con Zn^{2+}	Precipitación	Naranja de metilo	Lámpara incandescente	[27]
$\text{Al}_2\text{O}_3\text{-Nd}_2\text{O}_3$	Sol-gel	Diclofenaco	Lampara UV-254 nm	[28]

Los fotocatalizadores se sintetizaron por el método sol-gel. Para obtener un estudio detallado de la estructura, propiedades ópticas y superficiales se caracterizaron por técnicas como difracción de rayos-X, adsorción-desorción de N_2 , espectroscopía de reflectancia difusa y fotoluminiscencia. De acuerdo con las pruebas fotocatalíticas, el material más fotoactivo fue el Al_2O_3 modificado con Zn^{2+} al 1.0% en masa, aplicado en la fotodegradación de 80 ppm de fenol con una eficiencia de degradación del 79%.

2. Materiales y métodos

2.1. Síntesis

Para la síntesis de los materiales se emplearon los siguientes reactivos: tri-secbutóxido de aluminio ($\text{C}_{12}\text{H}_{27}\text{AlO}_3$, Sigma-Aldrich, 97%), 1-butanol ($\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$, J.T. Baker, 99.5%), ácido nítrico (HNO_3 , J.T. Baker, 70%) y nitrato de zinc hexahidratado ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Fermont, 99%). Todos los reactivos químicos

están disponibles comercialmente y se usaron sin ninguna purificación previa.

Los materiales de Al_2O_3 con diferentes contenidos de Zn^{2+} (0.5, 1.0 y 2.0 % en masa) se sintetizaron por el método sol-gel [11]. Se disolvió 0.098 mol de tri-secbutóxido de aluminio en 2.73 moles de 1-butanol dentro de un matraz con capacidad de 1.0 L a una temperatura de 60 °C y bajo agitación vigorosa, posteriormente, el pH se ajustó a 3.0 con ácido nítrico. Para llevar a cabo la reacción de hidrólisis se adicionó lentamente una solución compuesta por 0.40 mol de etanol y 1.71 mol de agua. En esta etapa, se agregaron las cantidades adecuadas del reactivo $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ para obtener Al_2O_3 con diferentes contenidos de Zn^{2+} (0.5, 1.0 y 2.0 % en masa). Después de llevar a cabo la reacción de hidrólisis, el sistema se mantuvo a reflujo a 90 °C por 24 h, transcurrido ese tiempo, se secó a 100 °C durante 24 h. El sólido obtenido fue molido en un mortero de ágata y calcinado a 400 °C por 3 h.

Los polvos de Al_2O_3 con diferentes contenidos de Zn^{2+} (0.5, 1.0 y 2.0 % en masa) fueron nombrados como AZn05, AZn1 y AZn2, respectivamente. Adicionalmente, se preparó un material de Al_2O_3 (sin impurezas de Zn^{2+}) como referencia que fue etiquetado como AZn0.

2.2. Caracterización

Los patrones de difracción de rayos-X se obtuvieron en un difractómetro modelo D2 Phaser marca Bruker con un ánodo de Cu que emite una longitud de onda de 0.154184 nm. Las isothermas de adsorción-desorción de N_2 de los materiales sintetizados se obtuvieron utilizando el equipo Quantachrome modelo Autosorb-3B. El área superficial específica se obtuvo utilizando el método BET. Los espectros UV-visible de los sólidos fueron medidos con un espectrofotómetro UV-Vis modelo Varian marca Cary 100 utilizando un accesorio de esfera integradora y BaSO_4 como referencia. Los espectros de fotoluminiscencia se midieron en un equipo de fluorescencia modelo FS-2 y marca Scinco.

2.3. Pruebas fotocatalíticas

La evaluación fotocatalítica se realizó en un reactor de vidrio cubierto con una chaqueta de enfriamiento con capacidad de 250 mL. Se usó una lámpara de mercurio de la marca Pen Ray que emite luz ultravioleta a una longitud de onda de 254 nm con intensidad de 4.4 mWcm^{-2} , la lámpara fue protegida por un tubo de cuarzo. Se utilizó una solución de fenol a una concentración de 80 ppm ($8.5 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$) y una masa de fotocatalizador de 200 mg. A lo largo del proceso fotocatalítico se burbujeó oxígeno (excepto cuando se indique lo contrario) y se mantuvo bajo agitación constante. Antes de encender la lámpara, la mezcla solución-catalizador se mantuvo en agitación durante 1 h, para que el fotocatalizador alcanzara el equilibrio de

adsorción-desorción del contaminante, transcurrido ese tiempo se encendió la lámpara. La duración de cada reacción fue de 6 h en las que se extrajo una alícuota de 3.0 mL cada hora para determinar el porcentaje de degradación del contaminante por espectroscopía UV-Vis, y el porcentaje de mineralización por carbono orgánico total (TOC por sus siglas en inglés). Las alícuotas pasaron a través de un filtro de nylon de 0.45 μm de diámetro de poro. Las reacciones fotocatalíticas se realizaron a temperatura ambiente y a presión atmosférica.

Adicionalmente, se realizó una prueba de detección de radicales hidroxilos ($\bullet\text{OH}$) por fotoluminiscencia empleando la molécula de cumarina. Para ello, se adicionó 200 mg del material más fotoactivo a 200 mL de una solución de cumarina $1 \times 10^{-3} \text{ M}$, bajo agitación magnética e iluminación con luz UV. La producción de radicales $\bullet\text{OH}$ se cuantificó cada 5 min durante 30 min de reacción; las alícuotas obtenidas se analizaron por espectroscopía de emisión de fluorescencia en un espectrómetro (marca Scinco y modelo FS-2) excitando las muestras a 332 nm. Finalmente, se llevó a cabo un experimento adicional con el material más activo, utilizando las mismas condiciones de la reacción fotocatalítica en la degradación de fenol, pero en ausencia de oxígeno. En esta prueba, se burbujeó N_2 durante la reacción fotocatalítica para purgar el oxígeno disuelto en el medio de reacción y analizar la importancia de O_2 en el mecanismo de fotodegradación del fenol.

3. Resultados y discusión

3.1. Difracción de rayos-X

La Figura 1A muestra los patrones de difracción de los materiales AZn0, AZn05, AZn1 y AZn2 sintetizados por el método sol-gel. Los picos de difracción observados corresponden a la fase gibbsita de la alúmina [11,29]. Se muestran los picos anchos

centrados en 28.5° , 36.7° y 65.5° en el eje 2θ , estos corresponden a los planos de reflexión (211), (312) y (233) de la fase gibbsita, con una red monoclinica, grupo espacial (P21/n) y parámetros de red $a = 8.624 \text{ \AA}$, $b = 5.060 \text{ \AA}$, y $c = 9.700 \text{ \AA}$; esta fase ya ha sido confirmada para la obtención de alúminas sintetizadas por el método sol-gel [11]. Haciendo un acercamiento, de los difractogramas de los materiales sintetizados, en el pico ubicado en 65.5° , se observa un ligero desplazamiento hacia ángulos mayores, sugiriendo que la adición de pequeñas cantidades de Zn^{2+} modifica los parámetros de red de la alúmina (ver Figura 1B). Este resultado indica que

Zn^{2+} se encuentra dentro de la red microcristalina de la alúmina como impureza. Para reforzar esta afirmación, en la Figura 1A se anexó el patrón de difracción del ZnO (COD 9011662), sin embargo, los materiales sintetizados no presentan estos planos cristalográficos por lo que se puede afirmar que la formación de ZnO no se llevó a cabo, sino que el Zn^{2+} está ocupando sitios intersticiales en la red microcristalina del Al_2O_3 . También, se observa que al aumentar la cantidad de Zn^{2+} en el óxido de aluminio los picos aumentan su intensidad sugiriendo que la adición de dopante en la red favorece la cristalinidad del material.

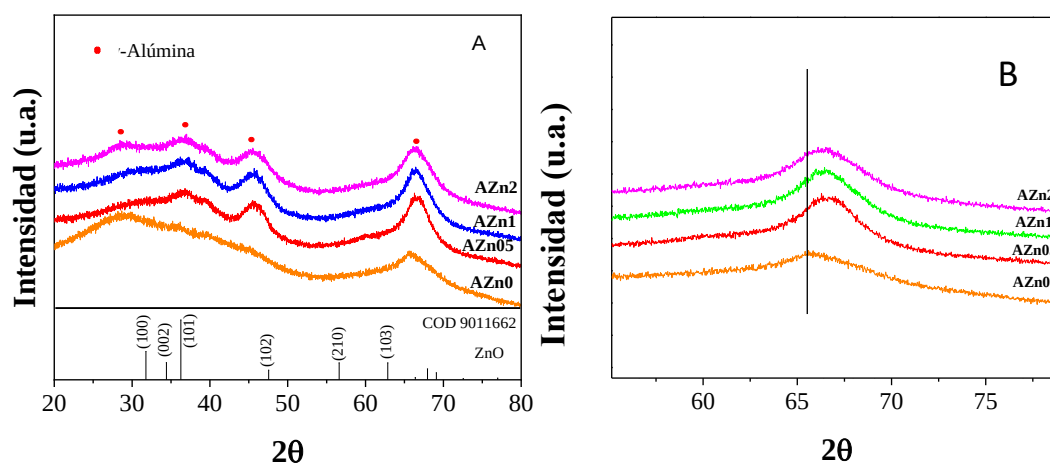


Figura 1. A. Difracción de rayos-X de los materiales AZn0, AZn05, AZn1 y AZn2. B. Desplazamiento del pico en 65.5° de la alúmina.

3.2. Fisisorción de N_2

Las isothermas de adsorción-desorción de N_2 que presentaron los materiales a base de alúmina calcinados a 400°C (se muestran en la Figura 2). Los materiales AZn0 y AZn2 presentaron isoterma tipo IV y lazo de histéresis tipo H2, característicos de materiales formados por capilares tubulares o aglomerados de partículas esferoidales con tamaño y forma de poros no uniformes. Los materiales AZn05 y AZn1 presentaron isoterma tipo IV con lazo de histéresis tipo H3 correspondiente a materiales formados por agregados o aglomerados que presentan poros

en forma de rendijas o partículas en forma de placas con tamaños no uniformes [30].

La adición de Zn^{2+} modifica las propiedades texturales del material AZn0. La Tabla 2 muestra el área superficial específica (S_{BET}) de los materiales sintetizados. Todos los materiales presentaron una S_{BET} alrededor de $400 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$; este resultado concuerda con otros trabajos publicados que presentan materiales obtenidos por el método sol-gel [31].

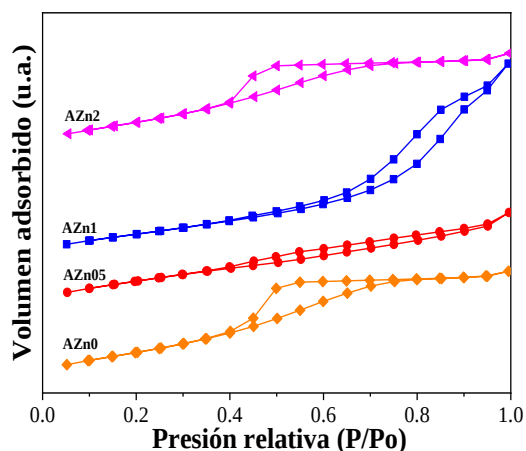


Figura 2. Isotermas de adsorción-desorción de los materiales AZn0, AZn05, AZn1 y AZn2.

3.3. Espectroscopía de reflectancia difusa

Los espectros de reflectancia difusa de las muestras AZn0, AZn05, AZn1 y AZn2 se muestran en la Figura 3. Todos los fotocatalizadores presentaron un borde de absorción alrededor de 250 nm que es propio de las transiciones electrónicas de la alúmina. Los valores de energía de banda prohibida (E_g) de los materiales se calcularon a través del gráfico de Tauc y se resumen en la Tabla 2. Los valores estimados de E_g son de alrededor 5.4 eV debido a la presencia de niveles energéticos que se generan debajo de la banda de conducción y son asociados con la formación de defectos en la superficie del material [32]. También, se observa que los materiales AZn05 y AZn1 tienen un borde de absorción de menor intensidad entre 250 nm y 350 nm; la formación de estos bordes se debe a los defectos generados principalmente por la adición de Zn^{2+} dentro de la matriz de alúmina que facilita la generación de defectos por vacancias de oxígeno [11,32,33]. A pesar de que los valores de E_g para estos materiales son altos es importante destacar que los defectos generados principalmente por vacancias de oxígeno promoverán un mejoramiento de las propiedades fotocatalíticas.

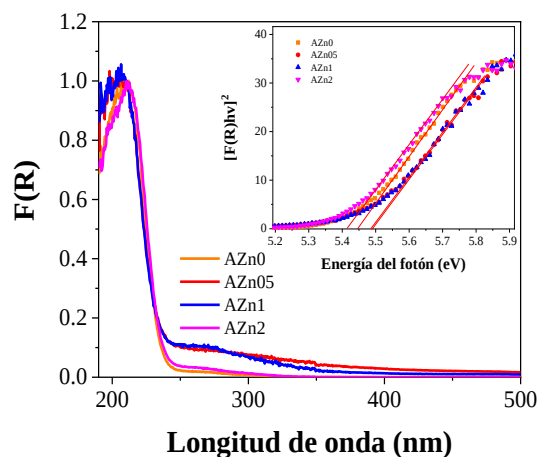


Figura 3. Espectroscopía de reflectancia difusa de los materiales AZn0, AZn05, AZn1 y AZn2. En el recuadro se muestra el gráfico de Tauc.

3.4. Fotoluminiscencia

La intensidad de las señales por fotoluminiscencia de materiales fotocatalíticos brinda información relacionada con la recombinación del par e^-h^+ fotogenerado. A menor intensidad de fotoluminiscencia menor será la tasa de recombinación de los pares e^-h^+ , favoreciendo así la actividad fotocatalítica [34]. La Figura 4 muestra los espectros de fotoluminiscencia para los materiales seleccionados (AZn05, AZn1 y AZn2). Estos exhibieron una señal en 550 nm al excitarlos con una longitud de onda de 254 nm [35,36], la señal más intensa fue para el material AZn05 seguida de AZn1 y la de menor intensidad para AZn2. En esta figura se puede observar que al aumentar el contenido de Zn^{2+} en la alúmina disminuye la intensidad del espectro de fotoluminiscencia, lo que sugiere que la velocidad de recombinación del par electrón-hueco disminuye a mayores contenidos de Zn^{2+} pudiendo favorecer la velocidad de degradación fotocatalítica [37,38].

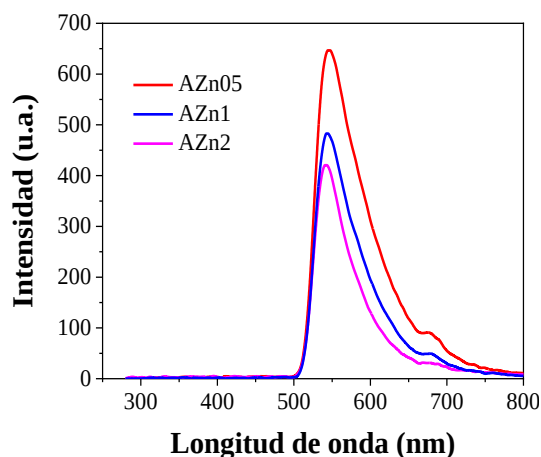


Figura 4. Espectros de fotoluminiscencia de los materiales AZn05, AZn1 y AZn2.

3.5. Pruebas fotocatalíticas

Los materiales sintetizados AZn0, AZn05, AZn1 y AZn2 fueron aplicados en la degradación de fenol por fotocatalisis, usando una lampara UV que emite a una longitud de onda de 254 nm y con intensidad de 4.4 mWcm⁻², se usó esta lámpara por que los materiales absorben en la región UV del espectro de acuerdo con la medición de UV-

Vis de reflectancia difusa. La Figura 5A-B muestra los espectros de absorción de la solución contaminante durante el proceso de fotocatalítico empleando los materiales AZn0 y AZn1. Se observó una disminución en la intensidad de las bandas ubicadas en 215 y 270 nm. A partir de la evaluación fotocatalítica, se encontró que el material más fotoactivo fue el etiquetado como AZn1. La buena actividad de este material es atribuida, principalmente, por el incremento de vacancias de oxígeno en la estructura del óxido de aluminio, como se discutió en la caracterización de reflectancia difusa, además indica que existe un contenido adecuado de Zn²⁺ que promueve una mejor eficiencia en la degradación del contaminante. Cabe señalar que con el transcurso del tiempo de reacción se distingue la formación de nuevas bandas entre 230 y 250 nm, y entre 280 y 300 nm (ver Figura 5), que es debido a la formación de intermediarios. Entre los más destacados, se han reportado, benzoquinona, hidroquinona, catecol, ácidos fórmico, oxálico, maleico y fumárico [39].

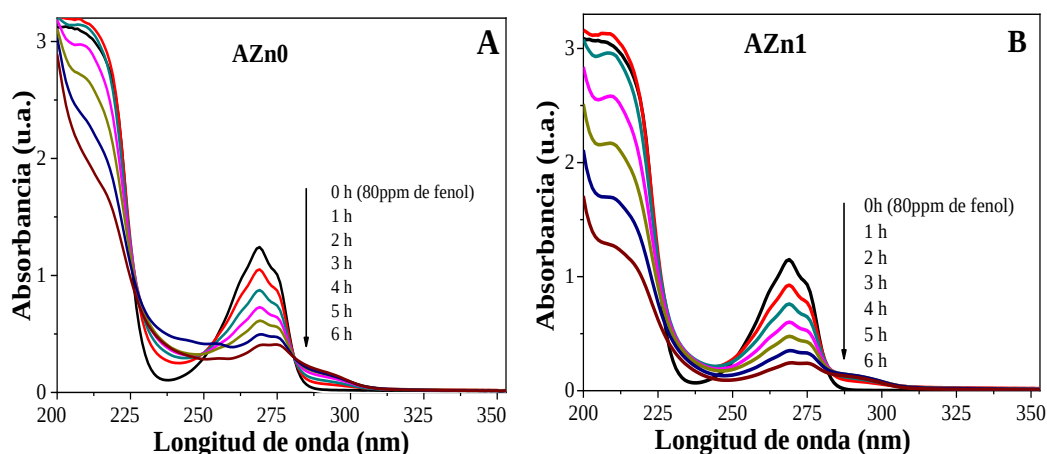


Figura 5. Fotodegradación de la molécula de fenol empleando los materiales **A.** AZn0 y **B.** AZn1.

La Figura 6A muestra el porcentaje de degradación del contaminante después de 6 h de reacción cuantificado por espectroscopía UV-Vis de líquidos (seguido a una longitud de onda de 270 nm). La eficiencia de la fotodegradación empleando los materiales

sintetizados fue comparada con el TiO₂ comercial (TiO₂-P25). Los materiales sintetizados por el método sol-gel mostraron mejor eficiencia fotocatalítica comparado con TiO₂-P25, debido a que presentan propiedades estructurales, ópticas y texturales

que mejoran la actividad fotocatalítica en la degradación de fenol, además de que, el material AZn1 presenta vacancias de oxígeno que favorece la eficiencia fotocatalítica. El material más fotoactivo fue AZn1 con 79% de degradación de contaminante, este hecho demuestra que la adición de Zn^{2+} en la red cristalina de la alúmina mejora su actividad fotocatalítica. Para asegurar que el proceso de mineralización del contaminante orgánico se

llevó a cabo, se realizó la medición de carbono orgánico total, como se observa en la Figura 6B. La disminución en la concentración relativa del TOC en función del tiempo de reacción se debe a la mineralización del contaminante. La Tabla 2 resume el porcentaje de degradación (determinado por UV-Vis) y mineralización (determinado por TOC).

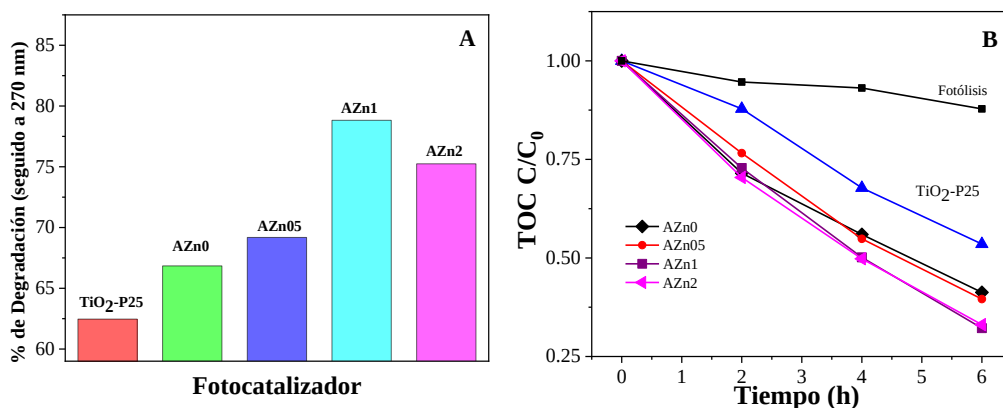


Figura 6. A. Porcentaje de degradación de fenol. B. Concentración relativa de fenol en función del tiempo de reacción cuantificado por la técnica de carbono orgánico total.

Tabla 2. Energía de banda prohibida (E_g), área superficial específica (S_{BET}) y porcentaje de degradación y mineralización de los materiales AZn0, AZn05, AZn1 y AZn2.

Material	E_g (eV)	S_{BET} ($m^2 g^{-1}$)	% Degradación	% Mineralización
AZn0	5.44	475	67	59
AZn05	5.48	421	69	62
AZn1	5.48	401	79	68
AZn2	5.42	454	75	67

* UV-Vis.

† Carbono orgánico total.

3.6. Mecanismo de reacción

Se realizó el experimento de producción de radicales $\bullet OH$ por fotoluminiscencia con cumarina con el material AZn1 y luego se comparó con TiO₂-P25 como referencia (ver la Figura 7). Se evidencia que con el material sintetizado por el método sol-gel no se lleva a cabo la producción de radicales hidroxilos, debido a que no supera la producción de radicales de la fotólisis (en ausencia de fotocatalizador), sin embargo, el material de referencia TiO₂-P25 presentó una alta producción de radicales $\bullet OH$. Este resultado

permite sugerir que el mecanismo de reacción no sigue el proceso tradicional de un material semiconductor como TiO₂, en el que la luz excita a los electrones de la banda de valencia a la banda de conducción generando el par $e^- - h^+$ fotogenerado, y subsecuentemente formando los radicales $\bullet OH$ que serán los responsables de degradar y hasta mineralizar a las moléculas contaminantes [4].

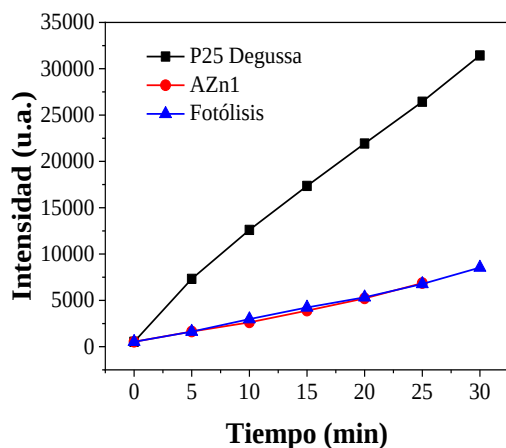


Figura 7. Producción de radicales hidroxilos. Intensidad de fluorescencia (a 465 nm) en función del tiempo de iluminación con luz UV.

Otros autores han reportado un mecanismo de reacción para materiales con una energía de banda prohibida grande como es el caso de alúminas, en el que se propone, un proceso de sensibilización de la molécula orgánica en la superficie del material con iluminación UV [10]. El proceso de sensibilización propone la formación de un complejo como consecuencia de la interacción de la molécula contaminante, un sitio activo en la superficie del material y una molécula receptora de electrones. En este caso la molécula aceptora de electrones es el oxígeno que se burbujea en el sistema de reacción, esto se comprobó mediante las reacciones con y sin oxígeno (inyección de N_2) empleando el material AZn1 (ver Figura 8).

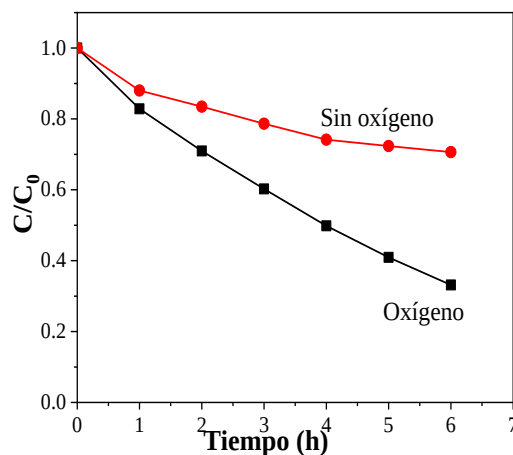


Figura 8. Concentración relativa de la reacción de fotodegradación de fenol (medido por espectroscopía UV-visible de líquidos) con la presencia y ausencia de oxígeno, utilizando el material AZn1.

Como se observa en la Figura 8, el oxígeno es importante para que el proceso de degradación se lleve a cabo, por lo que se propone que el oxígeno actúa como una molécula receptora de electrones para su posterior formación a radicales superóxidos que son necesarios para que la degradación de fenol ocurra. Se ha reportado en la literatura que, para que se lleve a cabo el proceso de degradación lo más probable es que se debe llevar a cabo la formación del complejo formado entre el fenol, la superficie del material y el oxígeno, después, el complejo formado es excitado con la luz ultravioleta, por lo que la molécula de fenol transfiere un electrón a la superficie del material y este es recibido por el oxígeno que se transforma en radicales superóxidos y estos son los iniciadores de la degradación y mineralización de fenol [7,10]. En la Figura 9 se ilustra la propuesta del mecanismo de reacción más viable para materiales a base de Al_2O_3 , también se observa que los iones de Zn^{2+} interactúan en la red microcristalina de la alúmina generando vacancias de oxígeno debido a la diferencia de carga entre Al^{3+} y Zn^{2+} , las vacancias de oxígeno fueron evidenciadas por espectroscopía de reflectancia difusa.

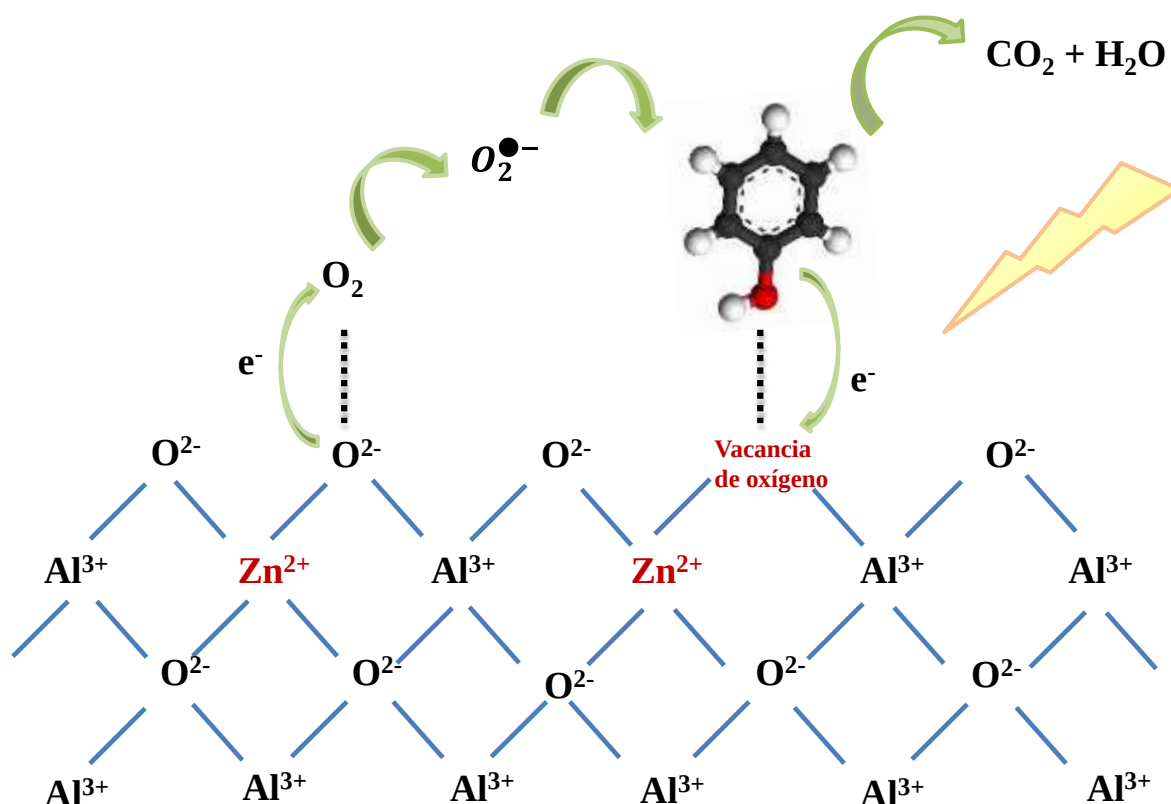


Figura 9. Mecanismo de reacción.

4. Conclusiones

Se logró mejorar la fotoactividad de Al_2O_3 con la adición de pequeñas cantidades de Zn^{2+} . El aumento en la actividad fotocatalítica se atribuye principalmente a la formación de vacancias de oxígeno, generados principalmente por los efectos de compensación de cargas, como se corroboró en la espectroscopía de reflectancia difusa. Las vacantes de oxígeno superficiales pueden promover la adsorción de O_2 y sirven como centros para capturar los electrones foto-inducidos durante la reacción fotocatalítica, de modo que, la recombinación de los portadores de carga foto-inducidos se puede inhibir de manera efectiva. Este efecto se corroboró con los espectros de fotoluminiscencia de los materiales AZn05 , AZn1 y AZn2 en los que se observó la inhibición de la recombinación al aumentar el contenido de Zn^{2+} .

5. Agradecimientos

Los autores Yanet Piña Pérez y Octavio Aguilar Martínez agradecen a CONACYT por la beca otorgada a través de la convocatoria Estancias Posdoctorales por México. Los autores agradecen al Instituto Politécnico Nacional (IPN) por el financiamiento otorgado de la convocatoria “Proyectos de Investigación en el Programa Especial de Consolidación de Investigadores 2023” y al proyecto CONACyT A1-S-41124.

6. Referencias

- [1] M. Letizia Davi Á, F. Gnudi, Phenolic compounds in surface water, n.d. www.elsevier.com/locate/watres.
- [2] S. Mohammadi, A. Kargari, H. Sanaeepur, K. Abbassian, A. Najafi, E. Mofarrah, Phenol removal from industrial wastewaters: a short review, *Desalin. Water Treat.* 53 (2015) 2215–

2234.
<https://doi.org/10.1080/19443994.2014.883327>.
- [3] C. Hansch, S.C. Mckarns, C.J. Smith, D.J. Doolittle, Comparative QSAR evidence for a free-radical mechanism of phenol-induced toxicity, 2000. www.elsevier.com/locate/chembiont.
- [4] Z. Guo, R. Ma, G. Li, Degradation of phenol by nanomaterial TiO₂ in wastewater, *Chem. Eng. J.* 119 (2006) 55–59.
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2006.01.017>.
- [5] C. Karunakaran, R. Dhanalakshmi, Semiconductor-catalyzed degradation of phenols with sunlight, *Sol. Energy Mater. Sol. Cells.* 92 (2008) 1315–1321.
<https://doi.org/10.1016/j.solmat.2008.05.002>.
- [6] C. Karunakaran, R. Dhanalakshmi, G. Manikandan, P. Gomathisankar, Photodegradation of carboxylic acids on Al₂O₃ and SiO₂ nanoparticles, *Indian J. Chem.* 50A (2011) 163–170.
- [7] A.M. Volodin, V.A. Bolshov, T.A. Konovalova, Photostimulated formation of radicals on oxide surfaces, *Mol. Eng.* 4 (1994) 201–226.
http://doi.org/10.1007/978-94-011-0493-7_8.
- [8] V.S. Zakharenko, Photoadsorption and photocatalytic oxidation on the metal oxides Components of tropospheric solid aerosols under the Earth's atmosphere conditions, *Catal. Today* 39 (1997) 243–249.
[https://doi.org/10.1016/S0920-5861\(97\)00105-3](https://doi.org/10.1016/S0920-5861(97)00105-3).
- [9] A.M. Volodin, Photoinduced phenomena on the surface of wide-band-gap oxide catalysts, *Catal. Today* 58 (2000) 103–114.
[https://doi.org/10.1016/S0920-5861\(00\)00245-5](https://doi.org/10.1016/S0920-5861(00)00245-5).
- [10] Y. Piña-Pérez, F. Tzompantzi-Morales, R. Pérez-Hernández, R. Arroyo-Murillo, P. Acevedo-Peña, R. Gómez-Romero, Photocatalytic activity of Al₂O₃ improved by the addition of Ce³⁺/Ce⁴⁺ synthesized by the sol-gel method. Photodegradation of phenolic compounds using UV light, *Fuel.* 198 (2017) 11–21.
<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.12.040>.
- [11] F. Tzompantzi, Y. Piña, A. Mantilla, O. Aguilar-Martínez, F. Galindo-Hernández, X. Bokhimi, A. Barrera, Hydroxylated sol-gel Al₂O₃ as photocatalyst for the degradation of phenolic compounds in presence of UV light, *Catal. Today* (2014) 49–55.
<https://doi.org/10.1016/j.cattod.2013.10.027>.
- [12] F.B. Li, X.Z. Li, C.S. Liu, T.X. Liu, Effect of alumina on photocatalytic activity of iron oxides for bisphenol A degradation, *J. Hazard. Mater.* 149 (2007) 199–207.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.03.069>.
- [13] J.S. Valente, F. Tzompantzi, J. Prince, Highly efficient photocatalytic elimination of phenol and chlorinated phenols by CeO₂/MgAl layered double hydroxides, *Appl. Catal. B Environ.* 102 (2011) 276–285.
<https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2010.12.009>.
- [14] A. Barrera, F. Tzompantzi, V. Lara, R. Gómez, Photodegradation of 2,4-D over PdO/Al₂O₃-Nd₂O₃ photocatalysts prepared by the sol-gel method, *J.*

- Photochem. Photobiol. A Chem. 227 (2012) 45–50.
<https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2011.10.023>.
- [15] X. Fu, W. Tang, L. Ji, S. Chen, V_2O_5/Al_2O_3 composite photocatalyst: Preparation, characterization, and the role of Al_2O_3 , Chem. Eng. J. 180 (2012) 170–177.
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2011.11.032>.
- [16] A. Mantilla, F. Tzompantzi, J.L. Fernández, J.A.I.D. Góngora, R. Gómez, Photodegradation of phenol and cresol in aqueous medium by using Zn/Al+Fe mixed oxides obtained from layered double hydroxides materials, Catal. Today. 150 (2010) 353–357.
<https://doi.org/10.1016/j.cattod.2009.11.006>.
- [17] P. Zhang, R.Y. Hong, Q. Chen, W.G. Feng, On the electrical conductivity and photocatalytic activity of aluminum-doped zinc oxide, Powder Technol. 253 (2014) 360–367.
<https://doi.org/10.1016/j.powtec.2013.12.001>.
- [18] M.D. Tzirakis, I.N. Lykakis, G.D. Panagiotou, K. Bourikas, A. Lycourghiotis, C. Kordulis, M. Orfanopoulos, Decatungstate catalyst supported on silica and γ -alumina: Efficient photocatalytic oxidation of benzyl alcohols, J. Catal. 252 (2007) 178–189.
<https://doi.org/10.1016/j.jcat.2007.09.023>.
- [19] V. Loddo, G. Marci, L. Palmisano, A. Sclafani, Preparation and characterization of Al_2O_3 supported TiO_2 catalysts employed for 4-nitrophenol photodegradation in aqueous medium, J. Hazard. Mater. 142 (1998) 88–96.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.07.061>.
- [20] J.C. Chen, C.T. Tang, Preparation and application of granular ZnO/Al_2O_3 catalyst for the removal of hazardous trichloroethylene, J. Hazard. Mater. 142 (2007) 88–96.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.07.061>.
- [21] C. Sol, R.J.D. Tilley, Ultraviolet laser irradiation induced chemical reactions of some metal oxides, J. Mater. Chem. 11 (2001) 815–820.
<https://doi.org/10.1039/b006787n>.
- [22] A. Di Paola, E. García-López, G. Marci, L. Palmisano, A survey of photocatalytic materials for environmental remediation, J. Hazard. Mater. 211–212 (2012) 3–29.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.11.050>.
- [23] J. Han, Y. Liu, N. Singhal, L. Wang, W. Gao, Comparative photocatalytic degradation of estrone in water by ZnO and TiO_2 under artificial UVA and solar irradiation, Chem. Eng. J. 213 (2012) 150–162.
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.09.066>.
- [24] W.R. Leow, W.K.H. Ng, T. Peng, X. Liu, B. Li, W. Shi, Y. Lum, X. Wang, X. Lang, S. Li, N. Mathews, J.W. Ager, T.C. Sum, H. Hirao, X. Chen, Al_2O_3 surface complexation for photocatalytic organic transformations, J. Am. Chem. Soc. 139 (2017) 269–276.
<https://doi.org/10.1021/jacs.6b09934>.
- [25] M. Polat Gonullu, Design and characterization of single bilayer

- ZnO/Al₂O₃ film by ultrasonically spray pyrolysis and its application in photocatalysis, *Superlattices Microstruct.* 164 (2022) 107113. <https://doi.org/10.1016/j.spmi.2021.107113>.
- [26] D.A. Al Farraj, A.M. Al-Mohaimeed, R.M. Alkufeydy, N.A. Alkubaisi, Facile synthesis and characterization of CeO₂-Al₂O₃ nano-heterostructure for enhanced visible-light photocatalysis and bactericidal applications, *Colloids Interface Sci. Commun.* 41 (2021) 100375. <https://doi.org/10.1016/j.colcom.2021.100375>.
- [27] S. Anbarasu, S. Ilangovan, V.S. Nagarethinam, J. Srivind, S. Balamurugan, M. Suganya, A.R. Balu, Improvement in the visible light mediated photocatalytic activity of Al₂O₃ nanoparticles through Zn²⁺ doping, *Nano-Structures and Nano-Objects.* 17 (2019) 67–76. <https://doi.org/10.1016/j.nanoso.2018.11.004>.
- [28] J.E. Casillas, J. Campa-Molina, F. Tzompantzi, G.G. Carbajal Arízaga, A. López-Gaona, S. Ulloa-Godinez, M.E. Cano, A. Barrera, Photocatalytic degradation of diclofenac using Al₂O₃-Nd₂O₃ binary oxides prepared by the sol-gel method, *Materials (Basel).* 13 (2020) 1345. <https://doi.org/10.3390/ma13061345>.
- [29] A. Tonejc, M. Stubicar, A.M. Tonejc, K. Kosanović, B. Subotić, I. Smit, Transformation of γ -AlOOH (boehmite) and Al(OH)₃ (gibbsite) to α -Al₂O₃ (corundum) induced by high energy ball milling, *J. Mater. Sci. Lett.* 13 (1994) 519–520. <https://doi.org/10.1007/BF00540186>.
- [30] G. Leofanti, M. Padovan, G. Tozzola, B. Venturelli, Surface area and pore texture of catalysts, n.d.
- [31] J. Sánchez-Valente, X. Bokhimi, F. Hernández, Physicochemical and catalytic properties of sol-gel aluminas aged under hydrothermal conditions, *Langmuir* 19 (2003) 3583–3588. <https://doi.org/10.1021/la020423>.
- [32] K.R. Nemade, S.A. Waghuley, Low temperature synthesis of semiconducting α -Al₂O₃ quantum dots, *Ceram. Int.* 40 (2014) 6109–6113. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2013.11.062>.
- [33] V. Rose, R. Franchy, The band gap of ultrathin amorphous and well-ordered Al₂O₃ films on CoAl(100) measured by scanning tunneling spectroscopy, *J. Appl. Phys.* 105 (2009) 07C902. <https://doi.org/10.1063/1.3056577>.
- [34] J. Liqiang, Q. Yichun, W. Baiqi, L. Shudan, J. Baojiang, Y. Libin, F. Wei, F. Honggang, S. Jiazhong, Review of photoluminescence performance of nano-sized semiconductor materials and its relationships with photocatalytic activity, *Sol. Energy Mater. Sol. Cells.* 90 (2006) 1773–1787. <https://doi.org/10.1016/j.solmat.2005.11.007>.
- [35] X.S. Peng, L.D. Zhang, G.W. Meng, X.F. Wang, Y.W. Wang, C.Z. Wang, G.S. Wu, Photoluminescence and Infrared Properties of γ -Al₂O₃ Nanowires and Nanobelts, *J. Phys. Chem.* 106 (2002) 11163–11167. <https://doi.org/10.1021/jp026028>.
- [36] L. Trinkler, B. Berzina, Z. Jevsjutina, J. Grabis, I. Steins, C.J. Baily,

- Photoluminescence of Al_2O_3 nanopowders of different phases, *Opt. Mater. (Amst)*. 34 (2012) 1553–1557. <https://doi.org/10.1016/j.optmat.2012.03.029>.
- [37] B. Sarma, S.K. Deb, B.K. Sarma, Photoluminescence and photocatalytic activities of Ag/ZnO metal-semiconductor heterostructure, in: *J. Phys. Conf. Ser.*, Institute of Physics Publishing, 765 (2016) 012023. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/765/1/012023>.
- [38] J.E. Casillas, F. Tzompantzi, S.G. Castellanos, G. Mendoza-Damián, R. Pérez-Hernández, A. López-Gaona, A. Barrera, Promotion effect of ZnO on the photocatalytic activity of coupled Al_2O_3 - Nd_2O_3 -ZnO composites prepared by the sol – gel method in the degradation of phenol, *Appl. Catal. B Environ.* 208 (2017) 161–170. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2017.02.030>.
- [39] X. Wei, H. Wu, G. He, Y. Guan, Efficient degradation of phenol using iron-montmorillonite as a Fenton catalyst: Importance of visible light irradiation and intermediates, *J. Hazard. Mater.* 321 (2017) 408–416. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.09.031>.



Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica

Página principal: www.riit.com.mx

Electrofitorremediación: remediación híbrida ex situ para la remoción de cromo hexavalente mediante *Solanum elaeagnifolium* Cav. y la aplicación de un campo eléctrico

Electrophytoremediation: ex situ hybrid remediation for hexavalent chromium removal by *Solanum elaeagnifolium* Cav. and the application of an electric field

Romero-Cervantes, M.^a, García-Zúñiga, M.^b, Castro-Salazar, J.I.^a, López-Almanza, E.^{a*}

^a Departamento de Ingeniería Ambiental, Instituto Tecnológico Superior de Abasolo. Abasolo, Guanajuato, CP. 36970, México.

^b Departamento de Ingeniería Mecatrónica, Instituto Tecnológico Superior de Abasolo. Abasolo, Guanajuato, CP. 36970, México.

izabelacervantes97@gmail.com; monica.gz@abasolo.tecnm.mx; ignacio.cs@abasolo.tecnm.mx; erick.la@abasolo.tecnm.mx*

Innovación Tecnológica: Combinación de técnicas fisicoquímicas y biológicas de remediación de suelos para la remoción de metales pesados usados en la industria curtidora.

Área de aplicación industrial: Remediación de suelos contaminados.

Recibido: 25 agosto 2022

Aceptado: 03 marzo 2023

Abstract

The presence of hexavalent chromium (Cr (VI)) in soils is an environmental problem that has increased in recent decades in Mexico. This increase is due to the use given to the metal by different industrial sectors, including, for example, the leather tanning industry which uses chromium salts to soften the leather, and the automotive industry that uses the metal for chrome plating of auto parts. Both industries are well established in the state of Guanajuato; However, they are also among the most polluting industrial sectors, releasing Cr (VI) residues into the environment, especially the tanning industry, as most of the companies in the sector are artisanal. Although physicochemical techniques have been developed for the removal of heavy metals, they tend to be expensive and, in some cases, can generate other compounds that can be equally or more toxic than the original ones. Therefore, hybrid soil remediation techniques, such as electrophytoremediation, can be used for the removal of Cr (VI) from industrial soils. In this study, soil extracted from the P.I.E.L. Park in León was used, which is known for grouping together most of the companies that carry out the tanning process. The objective was to evaluate the

electrophytoremediation technique at different concentrations of the contaminant (140, 395, and 620 mg/Kg) established on the basis of reference values indicated in the Mexican environmental regulations (NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004) for soils of industrial use, applying a current of 20 volts for 24 hours during a period of 28 days and comparing it with separate techniques (phytoremediation and electroremediation) under the same treatment conditions. The plant used was a native plant from the sampling site, identified as *Solanum elaeagnifolium* Cav. An alkaline digestion was carried out on the soil for the extraction of Cr (VI), and its final concentration was analyzed by a colorimetric reaction with diphenyl-carbazide in acid solution, and its absorbance was measured at 540 nm, determining that for electrophytoremediation, the maximum removal of hexavalent chromium was 92.40% at 620 mg/Kg, while in electroremediation, it was 88.30% for 395 mg/Kg, and in phytoremediation, 28.31% at 140 mg/Kg. The effect on the pH of the soil treated with the techniques separately and combined was also evaluated, observing that the pH remains unchanged, favoring the removal of the metal. These results demonstrate the effectiveness of electrophytoremediation for the recovery of industrial soils contaminated with this metal compared to other techniques.

Keywords: chromium, electrokinetics, electrophytoremediation, electroremediation, phytoremediation.

Resumen

La presencia de cromo hexavalente (Cr (VI)) en suelos es una problemática ambiental que se ha incrementado en las últimas décadas en México, este aumento se debe al uso que se le da al metal por distintos sectores industriales, entre ellos se encuentran por ejemplo el curtido de pieles que hace uso de sales de cromo para ablandar la piel y la industria automotriz que utiliza el metal para el cromado de autopartes, ambas industrias están bastante arraigadas en el estado de Guanajuato; sin embargo también son de los sectores industriales más contaminantes al liberar residuos de Cr (VI) al ambiente, sobre todo la industria curtidora ya que la mayoría de las empresas del gremio son de carácter artesanal. A pesar de que se han desarrollado técnicas fisicoquímicas para la remoción de metales pesados, estas tienden a ser costosas y en algunos casos pueden generar otro tipo de compuestos que pueden ser igual o más tóxicos que los originales. Es por ello, que las técnicas híbridas de remediación de suelos, como la electrofitorremediación, pueden utilizarse para la remoción de Cr (VI) presente en suelos industriales. En este estudio se utilizó suelo extraído del Parque P.I.E.L. de León, el cual es reconocido por agrupar a la mayoría de las empresas que realizan el proceso de curtido. El objetivo consistió en evaluar la técnica de electrofitorremediación a diferentes concentraciones del contaminante (140, 395 y 620 mg/Kg) establecidos en base a los valores de referencia indicados en la normatividad ambiental mexicana (NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004) para suelos de uso industrial, aplicando una corriente de 20 Volts por 24 horas durante en un periodo de 28 días y compararla con las técnicas por separado (fitorremediación y electrorremediación) a las mismas condiciones de tratamiento, la planta utilizada fue una planta nativa del sitio de muestreo la cual se identificó como *Solanum elaeagnifolium* Cav., se realizó una digestión alcalina al suelo para la extracción de Cr (VI) y se

analizó su concentración final mediante una reacción colorimétrica con difenil-carbazida en solución ácida y se midió su absorbancia a 540 nm, determinando que para la electrofitorremediación la máxima remoción de cromo hexavalente fue de 92.40% a 620 mg/Kg, mientras que en la electrorremediación fue de 88.30% para 395 mg/Kg y en la fitorremediación de 28.31% a 140 mg/Kg. También se evaluó el efecto sobre el pH del suelo tratado con las técnicas por separado y combinadas, observando que este se mantiene inalterado favoreciendo con ello la remoción del metal. Demostrando con estos resultados, la eficacia de la electrofitorremediación para la recuperación de suelos industriales contaminados con este metal en comparación con otras técnicas.

Palabras clave: cromo, electrocinética, electrofitorremediación, electrorremediación, fitorremediación.

1. Introducción

La presencia de metales pesados en el suelo es un problema que se ha intensificado en las últimas décadas en nuestro país, estos metales son el resultado de diversos procesos productivos, por ejemplo, la industria metalmecánica, la minería, la industria automotriz, la aeronáutica, entre otras. Sin embargo, esta contaminación también puede tener un origen natural. En términos de abundancia y de toxicidad, los metales más contaminantes son: mercurio, arsénico, plomo y cromo (Abraham-Covarrubias & Peña-Cabriales, 2017).

De acuerdo con Carrillo (2017), el sector productivo del curtido de pieles está representado por dos gremios bien definidos; aquellas empresas que conforman la Cámara de Industriales de la Curtiduría (CICUR), las cuales al ser empresas establecidas legalmente y en algunos casos al ser empresas transnacionales siguen una política ambiental, hacen uso de tecnologías de punta y establecen estrategias de cumplimiento de la normativa ambiental; mientras que el segundo grupo está conformado por micro, pequeñas y medianas empresas, en su mayoría son empresas familiares que no tienen un carácter legal y con una orientación de producción más tradicional, ligadas a la Asociación Nacional de Curtidores, que son más reacios a adoptar prácticas ambientales y

están orientadas al mercado nacional. Este último grupo de empresas, conforman el 90% del sector, y al ser empresas de carácter más artesanal que industrial tienen muy poco o nulo gasto en innovación e investigación para la protección ambiental, debido a ello es muy común que realicen descargas clandestinas de sales de cromo utilizadas en el proceso de curtido de pieles a cuerpos de agua y al suelo originando un problema de contaminación (Hernández & Contreras, 2022).

El proceso de curtido de las pieles comienza al despellejar al animal sacrificado, su posterior almacenamiento en frío y venta en forma de cuero curtido, semiterminado o terminado. Para realzar el curtido, se suelen emplear alguno de estos dos métodos, el curtido vegetal, donde se usan compuestos vegetales extraídos de plantas y/o árboles y el curtido al cromo, donde las pieles son inmersas en soluciones de sal y ácido para posteriormente recibir un baño de sulfato de cromo (Dussel & Cárdenas, 2018).

De las opciones anteriormente mencionadas, el curtido vegetal es más amigable con el ambiente, sin embargo tiende a ser un proceso más largo y delicado, ya que si no se tiene precaución se puede arruinar el cuero volviéndolo rígido, al contrario del curtido al cromo, el cual es más rápido y práctico ya que genera pieles más flexibles, las cuales son

idóneas para su uso en la industria automotriz y del calzado, sin embargo, es el más contaminante por el efecto tóxico del cromo (Ortiz-Gutiérrez et al., 2021).

Mundialmente se curten al cromo el 85% del total de las pieles que se destinan para curtiduría; sin embargo, estudios realizados por Martínez-Buitrago & Romero-Coca (2017) demuestran que el cuero y sus productos pueden llegar a presentar algunas sustancias peligrosas, entre ellas el cromo hexavalente (Cr (VI)) a pesar de que en el proceso de curtido solo se utilizan sales de cromo trivalente (Cr (III)). Estos estudios indican que el Cr (VI) presente en el cuero curtido, se origina por la oxidación del Cr (III) debido a la combinación de la presencia de oxígeno y la alteración del pH de las soluciones de curtido (Cao, 2021).

El uso de compuestos de cromo para curtir pieles puede provocar diferentes grados de afectación, por ejemplo, en términos de impacto ambiental se sabe que por cada pieza de piel que se curte se ocupa aproximadamente 1 m³ de agua y por cada tonelada de piel a curtir se pueden llegar a utilizar hasta 500 kg de sales de cromo, lo que genera grandes volúmenes de descargas de aguas residuales industriales. Así también, las exposiciones crónicas a este contaminante originan deterioros a la salud de los trabajadores de este sector (Barzallo et al., 2019; Hernández, 2022).

Como se ha mencionado el Cr (VI) no solo se genera por la industria curtidora, sino también por otros sectores productivos donde el metal es agregado en el proceso, se sabe por ejemplo que se puede llegar a incorporar hasta un 12% de Cr (VI) mediante procesos de electrodeposición para producir piezas cromadas, para la fabricación de pinturas antioxidantes, colorantes, conservadores de madera y catalizadores químicos. Cada año se pueden llegar a extraer hasta 14.4 millones de

toneladas de cromo en forma de cromita (Antúñez, 2014).

El Cr (VI) puede ingresar en el cuerpo humano vía digestiva, dérmica y respiratoria, durante su ingesta, puede causar un cuadro intestinal en forma de vómito, dolor abdominal, diarrea y hemorragias intestinales. De forma cutánea, puede causar dermatitis y úlceras. Y la exposición respiratoria de los gases de este metal se relaciona con cuadros de bronquitis, asma, ulceraciones y perforaciones del tabique nasal (Cárdenas-González et al., 2011). La exposición prolongada a este contaminante y sus derivados es causa de alteraciones del funcionamiento del hígado, afecciones al riñón, al sistema urinario y también puede ser detonador en la generación de neuropatías, estudios recientes ponen de manifiesto la relación que existe entre el Cr (VI) y la aparición de distintos tipos de cáncer, esto se debe en gran medida al estrés oxidativo causado por el contaminante, ya que los iones metálicos de transición como el Cr (VI) al reducirse a Cr (III) en el interior celular, pueden originar especies reactivas de oxígeno las cuales generan daños irreversibles al material genético (Becerra et al., 2014; García, 2019).

Debido a esto es que se han desarrollado distintas tecnologías físicas y químicas para la remoción del contaminante en el ambiente y llevar las concentraciones del Cr (VI) a parámetros admisibles por la normatividad ambiental vigente, estas técnicas parten de las propiedades fisicoquímicas de los metales y del medio afectado para transformar, inmovilizar o separar los metales. Por ello las soluciones actuales de remediación de los iones metálicos requieren de una fuerte inversión y de un gran avance tecnológico (Mejía, 2006). En la actualidad, los métodos fisicoquímicos más empleados para la eliminación de iones de Cr (VI) se enfocan en realizar una reducción del contaminante a

iones de Cr (III), los cuales representan su forma menos tóxica y menos soluble para posteriormente separarlos mediante una precipitación química. Algunos de estos métodos son; la estabilización fisicoquímica, extracción con ácido clorhídrico, el lavado de suelo con agentes extractantes, la adición de sustancias orgánicas e inorgánicas al suelo contaminado, la desorción térmica a temperaturas entre 320 y 560 °C, la inyección de solidificantes y la vitrificación, estas últimas dos técnicas son solo métodos de contención (Ortiz et al., 2007). Estos métodos resultan efectivos para remover el contaminante, sin embargo, pueden originar subproductos que pueden llegar a ser más tóxicos que el contaminante original, además al ser más costosos las empresas que desean apegarse a la normatividad ambiental no pueden costearlos y desisten de su aplicación (Meneses-Barroso et al., 2018).

Los valores establecidos en México para el Cr (VI) se pueden consultar en la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales [SEMARNAT], 2007), donde se indica una concentración de referencia total para el cromo hexavalente en suelos de uso industrial de 510 mg/kg. Por su parte, la Organización Mundial de la Salud establece un valor de 100 mg/kg de cromo en suelo (Ogundele et al., 2015), mientras que la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA, por sus siglas en inglés) establece un valor de referencia de 50 mg/kg de cromo en suelo (EPA, 2015), valores muy por debajo de lo que establece la normatividad ambiental mexicana.

Debido a ello, es que se han desarrollado otro tipo de tecnologías más asequibles y que no generan subproductos, conocidos como tratamientos biológicos, el más conocido es la biorremediación o biorrecuperación, donde se aprovecha la actividad metabólica de organismos vivos para reducir la

concentración y toxicidad en ambientes contaminados, estas tecnologías son menos invasivas con el ambiente y más económicos. Cuando los seres vivos empleados en los tratamientos biológicos son especies vegetales, el proceso se denomina fitorremediación, aunque también es conocida como fitolimpieza o fitocorrección, esta técnica se puede aplicar a suelos y a sistemas acuáticos para eliminar distintos tipos de contaminantes sean orgánicos o inorgánicos (Chiriví et al., 2019).

El propósito de la fitorremediación consiste en reducir la concentración o peligrosidad de contaminantes orgánicos e inorgánicos, de suelos, sedimentos, agua y aire, a partir de procesos bioquímicos realizados por las plantas, es una tecnología rentable, eficiente, novedosa, no invasiva y con una buena aceptación pública. La fitorremediación es un área de investigación activa actual, explorando nuevas especies vegetales hiperacumuladoras de metales pesados e incorporando la fitorremediación en trenes de tratamiento o en combinación con otras técnicas para generar técnicas híbridas.

La fitorremediación es una tecnología relativamente nueva pero que ha resultado ser sumamente efectiva para descontaminar suelo, agua e incluso aire, tiene una buena aceptación pública al ser menos invasiva que otras técnicas. Cada año se identifican nuevas especies de plantas con la capacidad de atrapar o acumular metales pesados. Una de las áreas actuales de investigación de la fitorremediación radica en combinarla con otras técnicas de remoción para crear técnicas híbridas de tratamiento (Medina-García et al., 2019). En el estudio realizado por Villen-Guzmán et al., (2020), los autores afirman que la caracterización del suelo es de suma importancia para determinar el enfoque de tratamiento más apropiado.

En el caso de suelos con una baja conductividad hidráulica, no es viable el uso de técnicas fisicoquímicas. Para este tipo de suelos, la técnica de electrorremediación también llamada electrocinética, es la mejor opción. Esta técnica consiste en aplicar una corriente eléctrica de baja intensidad a un par de electrodos insertados en el suelo contaminado que funcionan como polos positivo y negativo, generando un flujo de corriente a través del cual se movilizan hacia el ánodo o el cátodo, el agua, iones y partículas contaminantes con cargas positivas y negativas presentes en el suelo donde posteriormente son separadas. Estas técnicas son especialmente adecuadas para eliminar metales solubles o que están en el suelo en forma de complejos óxidos, hidróxidos y carbonatos (Cameselle & Gouveia, 2018).

Los mecanismos de transporte que ocurren debido a la presencia de un campo eléctrico inducido son la migración de iones, la electroforesis de sólidos coloidales y la electroósmosis en masa de una solución de lavado. En la práctica los electrodos utilizados, abarcan la totalidad del sitio contaminado, con una separación entre ellos, entre 2 y 10 metros e insertados a profundidades de hasta 20 metros, generalmente se usan diferenciales de potencial de entre 40 y 200 V (Antúnez, 2014). En los últimos años se ha comenzado a desarrollar tecnologías híbridas para el tratamiento de suelos contaminados. Estas tecnologías combinan la técnica de electrorremediación con alguna otra variante tecnológica, por ejemplo, con la biorremediación, bioestimulación, bioaumentación o la fitorremediación, buscando con ello mejorar o complementar la capacidad de remoción de las técnicas por separado (Alvarado et al., 2015).

El objetivo de esta investigación radicó en evaluar la técnica de electrofitorremediación con diferentes concentraciones de Cr (VI),

con una corriente de bajo voltaje y una planta nativa del sitio de estudio y compararla con las técnicas por separado (fitorremediación y electrorremediación) a las mismas condiciones de tratamiento.

2. Materiales y métodos

2.1 Área de estudio

El área de estudio se ubicó en el Parque Industrial Ecológico de León, también conocido como Parque P.I.E.L., este se encuentra en el libramiento carretero León – Aguascalientes, C.P. 37490, en la ciudad de León, Guanajuato, en este parque industrial se concentra la mayor parte de las empresas curtidoras de la ciudad de León, Guanajuato. En la Tabla 1 se muestran las coordenadas del sitio.

Tabla 1. Coordenadas de la zona de estudio en León, Gto.

Coordenadas	
Latitud	21.082646 °
Longitud	-101.716395 °
Elevación	1,778 msnm

Fuente: Elaboración propia.

2.2 Muestreo de suelo

Esta etapa del estudio atendió a la necesidad de evaluar las características fisicoquímicas del suelo, determinar la presencia y concentración del Cr (VI) y de obtener material de trabajo para las tres técnicas a comparar. El procedimiento se realizó siguiendo el protocolo descrito en la NMX-AA-132-SCFI-2016 (Secretaría de Comercio y Fomento Industrial, 2016). Se realizó un muestreo compuesto, para esto se tomaron 5 muestras simples de 3 kg cada una, considerando una profundidad de 10 cm a partir de la superficie. La muestra representativa se obtuvo mezclando el conjunto de las muestras simples, las coordenadas de cada uno de los puntos de muestreo fueron tomados con la aplicación móvil GPS Data ® (GPS Data, 2018) y se indican en la Tabla 2.

Tabla 2. Coordenadas de los puntos de muestreo.

Punto de muestreo	Longitud	Latitud
1	-101.717368 °	21.085401 °
2	-101.717294 °	21.084670 °
3	-101.717683 °	21.084845 °
4	-101.718180 °	21.085026 °
5	-101.718022 °	21.084305 °

Fuente: Elaboración propia.

2.3 Recolección e identificación de plantas en el área de estudio.

Se realizó una recolección de las especies de flora presentes en el área de estudio, para su aplicación en las técnicas de fitorremediación y electrofitorremediación, se consideró la planta de mayor abundancia en la zona como especie vegetal seleccionada. Las plantas fueron extraídas con todo y raíz, y se colocaron en macetas de plástico de 10 cm de diámetro por 9 cm de alto.

Para la identificación de la planta recolectada del sitio, se utilizó la aplicación móvil de reconocimiento vegetal PlantSnap® la cual se puede descargar de cualquier tienda de aplicaciones para móviles, para su uso, solo se necesita una fotografía de buena resolución y una conexión estable a internet, esta aplicación proporciona información referente a la planta: nombre común, nombre científico, altura y características en general (PlantSnap, 2017).

2.4 Análisis de fertilidad del suelo.

Para los análisis de la fertilidad del suelo recolectado, se envió un kilogramo de este a un laboratorio certificado y especializado en análisis de suelos, con la finalidad de conocer el grado de fertilidad del suelo, la conductividad hidráulica, así como la caracterización fisicoquímica del mismo y determinar la presencia del contaminante, el

laboratorio seleccionado para ello fue Fertilab®, ubicado en la ciudad de Celaya, Guanajuato.

2.5 Determinación del potencial hidrógeno (pH) y humedad.

La determinación de estos parámetros fisicoquímicos se realizó en base al procedimiento descrito en la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 (SEMARNAT, 2007), la cual establece los criterios para la caracterización y determinación de concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio, vanadio y sus compuestos inorgánicos; así como los criterios de remediación. La medición del pH se realizó al suelo al finalizar el periodo de tratamiento de cada uno de los sistemas aplicados, fitorremediación (FR), electrorremediación (ER), electrofitorremediación (EF).

2.6 Determinación colorimétrica de cromo hexavalente en suelo.

Para determinar la presencia de Cr (VI) en el suelo recolectado se utilizó el procedimiento indicado en la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 (SEMARNAT, 2007); para ello se usaron 2.5 gr de suelo, se realizó un tratamiento previo de digestión alcalina a la muestra, este es un método que consiste en la extracción del Cr (VI) en su forma soluble, adsorbida y precipitada de compuestos de cromo en suelos; una vez que el cromo ha sido separado de las partículas de suelo, se determina colorimétricamente mediante una reacción con difenil carbazida en solución ácida, desarrollando una coloración rojo-violeta en las muestras con la presencia del metal, enseguida se midió la absorbancia a 540 nm mediante un espectrofotómetro BEL-LGS53®, este procedimiento se empleó en los análisis de los procesos de electrorremediación,

fitorremediación y electrofitorremediación para determinar la concentración final de Cr (VI).

2.7 Diseño de los tratamientos de remediación.

Se establecieron tres tratamientos distintos; fitorremediación (FR), electrorremediación (ER) y la combinación de ambos denominada electrofitorremediación (EFR) a tres diferentes concentraciones de Cr (VI): 140, 395 y 620 mg/kg tomando como referencia la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 (SEMARNAT, 2007), en la cual se establece que para suelo de uso industrial la concentración límite de Cr (VI) debe de ser de 510 mg/kg, por lo que se establecieron valores debajo, cercanos y sobre el valor de referencia, se usaron tres repeticiones para cada concentración además del control; se prepararon tres soluciones de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) como fuente de Cr (VI), a 140, 395 y 620 ppm, todos los tratamientos se aplicaron en 400 gr de suelo colocados en

recipientes de plástico con capacidad aproximada de 500 mL, el suelo fue previamente tamizado y humectado con las soluciones de $K_2Cr_2O_7$.

2.8 Tratamientos electrocinéticos.

Para los tratamientos electrocinéticos (ER y EFR) se utilizaron como electrodos placas de grafito de 6 x 3 x 1 cm, con una distancia de separación entre ellos de 8 cm e insertados en el suelo a tratar a una profundidad de 3.5 cm, se aplicó una corriente de 20 V durante 24 horas con el apoyo de una fuente de poder de corriente directa KEYSIGHT®, el voltaje utilizado se estableció en base a la consulta de literatura donde se remediaba una cantidad similar a 400 gr de suelo pero tratando otros metales pesados como el plomo, cadmio y arsénico (Hernández et al., 2010). El periodo de tratamiento fue de 28 días y los análisis de la determinación de Cr (VI) se realizaron una vez por semana, los tratamientos utilizados se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3: Descripción de los tratamientos utilizados.

Control	Tratamiento	Descripción	Concentraciones iniciales		
			140 mg/kg	395 mg/kg	620 mg/kg
Ctrl	FR	Plantas sin Electrodo	FR1/140	FR1/395	FR1/620
			FR2/140	FR2/395	FR2/620
			FR3/140	FR2/395	FR3/620
	ER	Electrodo sin Plantas	ER1/140	ER1/395	ER1/620
			ER2/140	ER2/395	ER2/620
			ER3/140	ER2/395	ER3/620
	EFR	Plantas y Electrodo	EFR1/140	EFR1/395	EFR1/620
			EFR2/140	EFR2/395	EFR2/620
			EFR3/140	EFR2/395	EFR3/620
	Repeticiones				

Los términos FR, ER y EFR significan respectivamente: fitorremediación, electrorremediación y electrofitorremediación, los números que acompañan a estos términos indican la repetición y la concentración respectivamente, para el control solamente se usó la tierra que fue recolectada del sitio sin la adición extra de Cr (VI).

Fuente: Elaboración propia.

3. Resultados

3.1 Identificación de flora en el área de estudio

Los resultados de la identificación de plantas con la aplicación móvil PlantSnap® mostraron que se trataba de la especie

Solanum elaeagnifolium Cav., o comúnmente conocida como trompillo, buena mujer, pera o tomatito de buena mujer; puede ser una maleza dañina en muchos cultivos, sin embargo, se considera como un componente atractivo de la vegetación a orillas de carretera en regiones áridas del país, es

común encontrarla en el centro de Estados Unidos, al centro de México y en Sudamérica (Hanan et al., 2009).

S. elaeagnifolium, es una planta perenne de 20 a 50 cm de alto, sus hojas tienen el borde ondulado, produce bayas con semillas discoides, aplanadas, parduzcas, de unos 4 mm de diámetro (Departamento de Botánica-Instituto de Biología, 2019). En una investigación realizada por Trejo et al., (2009), se determinó que *S. elaeagnifolium* tiene la capacidad de extraer cadmio y plomo en suelos contaminados con estos metales, con lo que queda de manifiesto su capacidad fitorremediadora.

3.2 Fertilidad del suelo.

Los resultados brindados por el laboratorio Fertilab® (2020), indican que el suelo recolectado posee un contenido medio de

materia orgánica, un alto suministro en fósforo, altos niveles en calcio, moderadamente alto en potasio, un nivel medio en magnesio y un contenido moderadamente alto de azufre. En cuanto a la disponibilidad de micronutrientes, los resultados indican que el suelo tiene niveles medios de hierro disponible, muy bajo en zinc, bajo en manganeso, moderadamente alto en el contenido de cobre y bajo en boro, por lo que es recomendable su aportación en caso de que se desee utilizar para cultivo, los resultados detallados se muestran en la Tabla 4. Estos valores fueron obtenidos mediante el procedimiento descrito en la NOM-021-RECNAT-2000 (SEMARNAT, 2002). En cuanto a su conductividad hidráulica, esta fue de 3.90 cm/h, lo que demuestra que posee una conductividad media, esto indica que es viable el uso de técnicas electrocinéticas para la remoción del metal.

Tabla 4. Resultados de los análisis de fertilidad del suelo, se muestran la cantidad de los nutrientes presentes en el suelo, así como su interpretación (Fertilab, 2020).

Determinación	Resultado	Unidad	Interpretación
Materia orgánica	2.20	%	Medio
Carbonatos totales	1.06	%	Muy bajo
Salinidad (CE Extracto)	0.95	dS/m	Bajo
P-Bray	53.7	ppm	Alto
K	440	ppm	Moderadamente alto
Ca	4263	ppm	Alto
Mg	397	ppm	Medio
Na	158	ppm	Moderadamente bajo
Fe	10	ppm	Medio
Zn	0.13	ppm	Muy bajo
Mn	2.36	ppm	Bajo
Cu	1.41	ppm	Moderadamente alto
B	0.68	ppm	Bajo
S	16.4	ppm	Moderadamente alto
N-NO ₃	33.5	ppm	Moderadamente alto

Fuente: Elaboración propia.

En cuanto a la presencia de metales pesados, los resultados indican que el suelo analizado presenta una concentración de 85.214 mg/kg de Cr (VI), una concentración muy por debajo a lo que establece el valor indicado en la normatividad nacional, que es de 510 mg/kg, más sin embargo no debería de estar presente en el suelo recolectado ya que el sitio de

muestreo está ubicado a una distancia de aproximadamente 300 metros de la empresa curtidora más cercana. Para determinar la presencia de metales pesados en suelo, se utilizó el método 6010C (SW-846), descrito por la EPA (2007), la cual se basa en el uso de espectroscopia de emisión atómica de plasma acoplado por inducción (ICP-AES).

3.3 Potencial hidrógeno (pH) y humedad.

El primer parámetro evaluado fue el pH, los resultados indican que el suelo es ligeramente alcalino. Al finalizar los tratamientos de fitorremediación (FR), electrorremediación (ER) y electrofitorremediación (EFR); se

puede apreciar una tendencia de reducción del pH en los tratamientos de FR y ER, mientras que en la EFR se ve un ligero aumento en los tratamientos a concentraciones de 140 y 620 mg/kg, sin embargo, el suelo sigue presentando un carácter alcalino. Estos resultados se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5: Resultados del pH al finalizar los tratamientos de remediación aplicados.

pH inicial sin tratamiento	Carácter inicial del suelo	Tratamiento	Concentración de Cr (VI) (mg/kg)	pH final promedio	Carácter final del suelo
8.96		FR	140	8.31	Alcalino
			395	8.70	
			620	8.69	
8.51	Alcalino	ER	140	8.49	Alcalino
			395	8.31	
			620	8.02	
7.96		EFR	140	9.07	Alcalino
			395	7.79	
			620	8.54	

Los términos FR, ER y EFR significan respectivamente: Fitorremediación, Electrorremediación y Electrofitorremediación.

Fuente: Elaboración propia.

3.4 Determinación de cromo final en los tratamientos.

Los resultados de la concentración final de Cr (VI) se muestran en la Tabla 6, se puede apreciar que en los tres tratamientos aplicados hubo una disminución en la concentración final del contaminante, sin embargo, para el tratamiento de fitorremediación (FR) se nota

una reducción menor a comparación de los tratamientos electrocinéticos (ER y EFR) donde la reducción del contaminante fue mucho mayor, de estos dos tratamientos, en la electrofitorremediación se aprecia una reducción más evidente del contaminante en rangos de un 70 a casi un 90% para todas las concentraciones del contaminante (140, 395 y 620 mg/kg).

Tabla 6: Resultados de las concentraciones finales de Cr (VI) en cada uno de los tratamientos aplicados.

Tratamiento	Concentración inicial (mg/Kg)	Concentración promedio final en base seca (mg/Kg)	Porcentaje de reducción (%)
Control	85.214	85.20	0.01
	140	107.74	23.04
	395	339.73	13.99
FR	620	561.37	9.46
	140	46.25	66.96
	395	47.2	88.05
ER	620	108.48	82.5
	140	40.65	70.96
	395	64.79	83.60
EFR	620	73.66	88.12

Los términos FR, ER y EFR significan respectivamente: Fitorremediación, Electrorremediación y Electrofitorremediación.

Fuente: Elaboración propia.

4. Discusión

Los resultados de la determinación de Cr (VI) del suelo recolectado en el Parque Industrial Ecológico de León, indican la presencia del contaminante, si bien es menor al valor de referencia indicado en la normatividad mexicana, se debe recalcar que el sitio de donde fue tomada la muestra de suelo, a pesar de estar dentro del polígono del parque industrial; no hay ninguna empresa establecida en el lugar y la empresa curtidora más cercana al sitio de muestreo se encuentra aproximadamente a 300 metros de distancia, por lo que no debería de estar presente el metal o debería estarlo pero en una concentración mucho menor; en sus inicios el parque fue concebido para ubicar a las empresas curtidoras del municipio y controlar los residuos tóxicos generados, pero en su planeación no se consideró que el proceso de curtido sigue siendo principalmente artesanal y los curtidores desconocen las nuevas tecnologías y los procesos aplicados al sector donde generen menos contaminantes.

La presencia del metal en las muestras de suelo podría explicarse por el proceso productivo del curtido de la piel, ya que uno de los pasos de este proceso consiste en secar la piel después de lavarla con sales de cromo para reducir la humedad y evitar la descomposición bacteriana de la piel. Las pieles son secadas al sol, para ello los trabajadores tienden las pieles directamente en el suelo en un terreno aledaño a la empresa y por fenómenos de migración el metal ha terminado en el sitio de muestreo, se sabe que la movilidad del metal depende de las características de sorción del suelo así como de su pH; en general, la movilidad de los metales pesados en el suelo es baja a pH alcalinos, situándose en los primeros centímetros del suelo, otra posible explicación a la presencia del metal puede deberse a las descargas clandestinas de agua

residual industrial con presencia del contaminante en el Arroyo el Granizo, ya que este cuerpo de agua es limítrofe al sitio de muestreo y al parque industrial, por lo que estas aguas se estarían infiltrando al mismo, se sabe que este arroyo tiene la presencia del contaminante afectando a productores agrícolas de la región que hacen uso del agua de este afluente.

Las concentraciones tan pequeñas del metal pudieran indicar que la presencia de plantas y/o microorganismos nativos y las condiciones propias del lugar inciden en que los niveles de la concentración de Cr (VI) se mantengan en concentraciones mínimas al estar llevando a cabo un proceso de recuperación pasiva. En base a los resultados obtenidos en este estudio se puede deducir que los procesos electrocinéticos de remoción de contaminantes son más adecuados para la remoción de Cr (VI) tanto para concentraciones bajas, medias y altas del metal, mientras que los procesos biológicos, que aunque también mostraron una reducción del contaminante, fue menor en comparación con los tratamientos electrocinéticos aplicados en este estudio; por lo que también resultan adecuados si es que se tiene contemplado realizar un plan de tratamiento a largo plazo.

La mayoría de los metales están disponibles a un pH ácido porque no son tan fuertemente adsorbidos por la matriz del suelo, sin embargo, metales como el Cr, As, Mb y Se son más susceptibles a la biodisponibilidad a un pH alcalino, incrementándose la adsorción del metal. Todos los tratamientos aplicados en este estudio mantuvieron el carácter alcalino del suelo, aunque hubo una ligera modificación en el valor de pH al finalizar cada tratamiento, esto puede deberse a la reacción de oxidación del agua presente en el suelo, generando protones H^+ en el ánodo que se mueven hacia el cátodo provocando un

frente ácido, pero sin alterar significativamente el carácter alcalino del suelo tratado manteniendo la biodisponibilidad del metal.

Se infiere que al aplicar una corriente eléctrica de baja intensidad en combinación con *S. elaeagnifolium* Cav., se estimula la remoción del metal por fenómenos de migración electrocinética hacia los electrodos y su posterior electrodeposición en estos, las concentraciones remanentes del metal, que aún quedaron presentes en el suelo tratado; fueron removidos posteriormente por la planta posiblemente por procesos de bioacumulación; ya que al aplicar una corriente eléctrica se favorece la apertura de poros en la pared celular de las células vegetales, permitiendo con ello el ingreso de los iones de Cr (VI) al interior de las células favoreciendo su acumulación e incidiendo directamente en la remoción del contaminante.

En otros estudios donde la técnica de electrofitorremediación fue aplicada para eliminar el cromo hexavalente pero con el uso de otras especies vegetales, entre ellas *Brassica rapa*, *Phalaris canariensis*, *Zea mays*, *Lolium perenne* L., avena y girasol (Chirakkara et al., 2015; Romero, 2018; Cameselle et al., 2019, Cameselle et al., 2021, Sailesh et al., 2023), se logró una reducción de la concentración del metal pero en menor proporción que con el uso de *S. elaeagnifolium* Cav., algo a resaltar de dichas investigaciones, es que las plantas utilizadas fueron plantadas y crecidas en sustratos nutritivos y posteriormente trasplantadas a suelos con la presencia de cromo hexavalente, por lo que no estaban adaptadas al contaminante, a diferencia de este estudio donde las plantas fueron recolectadas de un parque industrial donde el giro de las empresas es la curtiembre de la piel, por lo que ya presentaban un alto grado de adaptabilidad al contaminante. Otro aspecto

para considerar fue el voltaje utilizado, en esos estudios el voltaje aplicado fue menor en comparación con esta investigación, lo que pudo influir en una baja migración de los iones y en una menor bioacumulación. Por lo tanto, se deduce que el uso de plantas adaptadas a la presencia del contaminante y combinado con un campo eléctrico de 20 V y con menores tiempos de tratamiento permite alcanzar remociones del contaminante a valores inferiores a los indicados por la normativa ambiental mexicana e incluso por debajo de los valores establecidos por la Organización Mundial de la Salud y por la Agencia de Protección Ambiental.

Con este estudio se comprobó que *S. elaeagnifolium* Cav. posee la capacidad de tolerar distintos rangos de concentraciones de Cr (VI) incluso muy por arriba de los límites de referencia máximos, del mismo modo se comprueba que la técnica híbrida de electrofitorremediación resultó ser más idónea para la remoción del contaminante que está presente en suelos, con lo cual se podrán establecer métodos de tratamientos híbridos in situ a suelos contaminados con este metal pesado.

5. Conclusiones

La presencia de metales pesados en diferentes entornos es un problema no solo a nivel local sino también a nivel nacional, lo que puede derivar en daños a la salud pública y problemas ambientales. El Cr (VI) tiene la particularidad de que no permanece en la atmósfera, sino que se concentra en suelo y agua, lo que afecta las cadenas productivas que utilizan estos recursos. Debido a lo anterior, es necesario el desarrollo de tecnologías adecuadas, asequibles y probadas que permitan la remoción del metal en condiciones controladas. Este estudio demuestra la aplicación de nuevas técnicas de remediación de suelos para eliminar Cr (VI), las cuales se basan en la remoción del metal

pesado por parte de *S. elaeagnifolium* Cav. en combinación con técnicas electrocinéticas que resultan en la electrodeposición del contaminante en los electrodos utilizados. Los resultados experimentales descritos en este estudio señalan que la técnica híbrida de electrofitorremediación es una alternativa viable para la remoción de Cr (VI) y que podría aplicarse con éxito para la remoción de otros metales pesados presentes en el suelo. Este estudio también muestra que las técnicas electrocinéticas pueden aplicarse de forma ex situ, con lo que podrá escalarse el proceso para aplicarse in situ, con cantidades más grandes de suelo contaminado con Cr (VI), por períodos más largos o para otro tipo de metales pesados que pudieran estar presente en suelos industriales.

6. Agradecimientos

Los autores de este artículo agradecemos al Tecnológico Nacional de México y al Gobierno del Estado de Guanajuato por contribuir económicamente para que este proyecto pudiera llevarse a cabo a través de la Convocatoria TecNM 2020: Proyecto de Investigación Científica. Modalidad: Por Licenciatura.

7. Referencias

1. Abraham-Covarrubias, S., & Peña-Cabiales, J. (2017). Contaminación ambiental por metales pesados en México: Problemática y estrategias de fitorremediación. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 33(esp01): 7–21. <https://doi.org/10.20937/rica.2017.33.esp01.01>
2. Alvarado, J., Navarro, K., Terán, K., & Vizcarra, C. (2015). Electrobiorremediación, una técnica innovadora para la limpieza de suelos contaminados. *EPISTEMUS*, 9(18): 96–99. <http://www.epistemus.uson.mx/revistas/articulos/18-ELECTROBIORREMEDIACION.pdf>

3. Antúnez, D. X. (2014). Fundamentos de química ambiental. Volumen II (1a ed., Vol. 2). SINTESIS. pp.356
4. Barzallo, D., Parada, M., Puente, C., Carrera, C., & Ramos, J. (2019). Desarrollo de una formulación para la curtición de piel caprina con ácido húmico y tara. *Perfiles*, 2(22): 78–86. http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/11209/1/per_n22_v2_03.pdf
5. Becerra, S., Soria, C., Jaramillo, F., & Moreno, J. (2014). Trastornos a la salud inducidos por cromo y el uso de antioxidantes en su prevención o tratamiento. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy*, 2(2): 19–30. <https://www.redalyc.org/pdf/4960/496050267001.pdf>
6. Cameselle, C., & Gouveia, S. (2018). Métodos para el tratamiento de suelos contaminados (Vol. 1) [Libro electrónico]. En Fundición. Recuperado 22 de junio de 2022, de <https://www.unescosost.org/post/riartas>
7. Cameselle, C., Gouveia, S. & Cabo, A. (2021). Sustainable Phytoremediation of Soils Enhanced with Electric Field. *International Journal of Geosynthetics and Ground Engineering*, 7(2). <https://doi.org/10.1007/s40891-021-00278-7>
8. Cameselle, C., Gouveia, S., & Urréjola, S. (2019). Benefits of phytoremediation amended with DC electric field. Application to soils contaminated with heavy metals. *Chemosphere*, 229, 481–488. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.04.222>
9. Cao, I. (2021, 29 octubre). Diferentes tipos de curtidos. *Panuncio*. <https://panuncio.com/blogs/news/diferentes-tipos-de-curtidos>
10. Cárdenas-González, J. F., Martínez-Juárez, V. M., & Acosta-Rodríguez, I.

- (2011). Remoción de Cromo (VI) por una cepa de *Paecilomyces* sp Resistente a Cromato. *Información tecnológica*, 22(4): 43–50. <https://doi.org/10.4067/s0718-07642011000400006>
11. Carrillo, G., Azamar, A., & Torre-Marín, G. C. (2017). Innovación tecnológica y curtiduría en el estado de Guanajuato. *Economía Informa*, 402: 66–79. <https://doi.org/10.1016/j.ecin.2017.01.005>
12. Chirakkara, R. A., Reddy, K. R. & Cameselle, C. (2015). Electrokinetic Amendment in Phytoremediation of Mixed Contaminated Soil. *Electrochimica Acta*, 181, 179–191. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2015.01.025>
13. Chiriví, J., Fajardo, C., Gómez, L., & Delgado, S. (2019). Biorremediación de metales pesados [Libro electrónico]. En *Revisión y panorama nacional de la biorremediación microbiana* (pp. 50–62). Recuperado 6 de julio de 2022, de <https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/bo/article/view/3721/3742>
14. Departamento de Botánica-Instituto de Biología. (2019), *Solanum elaeagnifolium* Cav., ejemplar de: Herbario Nacional de México (MEXU), Plantas Vasculares. En Portal de Datos Abiertos UNAM (en línea), México, Universidad Nacional Autónoma de México. Disponible en: <http://datosabiertos.unam.mx/IBUNAM:ME XU:183014>
15. Dussel, E., & Cárdenas, H. (2018). Condiciones y Retos del segmento del cuero para incrementar el valor agregado de las exportaciones de la Cadena del Calzado en México. Cámara de la Industria del Calzado del Estado de Guanajuato. https://www.ciceg.org/pdf/RetosdelSector_baja.pdf
16. EPA. (2015). Regional Screening Level (RSL) Composite Worker Soil Table (TR=1E-6, HQ=1) [Conjunto de datos]. https://archive.epa.gov/region9/superfund/web/pdf/indsoil_sl_table_run_june2015.pdf
17. EPA. (2007). "Method 6010C (SW-846): Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry," Revision 3. <https://19january2017snapshot.epa.gov/home/eland-security-research/epa-method-6010c-sw-846-inductively-coupled-plasma-atomic-emission.html>
18. Fertilab®. (2020). Informe de resultados: Diagnostico de la fertilidad del suelo. Celaya, Guanajuato, México
19. García, M. (2019). Polifenoles y vitaminas en la protección del daño genético inducido por metales con potencial cancerígeno. *Nutrición Clínica en Medicina*, XIII (3): 129–139. <https://doi.org/10.7400/NCM.2019.13.3.5078>
20. GPS Data (1.4.7). (2018). [Aplicación Móvil]. Propane apps. <https://play.google.com/store/apps/details?id=com.exatools.gpsdata&hl=es> 419
21. Hanan, A., Vibrans, H., & Tenorio, P. (2009, 13 agosto). *Solanum elaeagnifolium* - ficha informativa. <http://www.conabio.gob.mx/>. Recuperado 11 de agosto de 2022, de <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/solanaceae/solanum-elaeagnifolium/fichas/ficha.htm>
22. Hernández, A. P. M. (2022). Ambientalismo: El río y la contaminación que arrastran sus aguas. *Tribuna de Querétaro*. <https://tribunadequeretaro.com/informacion/sjr/ambientalismo-el-rio-y-la-contaminacion-que-arrastran-sus-aguas/>

23. Hernández, L., Ramírez, M. V., & Cruz, V. L. (2010). Electrorremediación de suelos arenosos contaminados por Pb, Cd y As provenientes de residuos mineros, utilizando agua y ácido acético como electrolitos. *Superficies y vacío*, 24(1), 24-29. https://repository.uaeh.edu.mx/bitstream/bitstream/123456789/7716/1/SV2412411_2.pdf
24. Hernández, V., & Contreras, J. (2022). Las pieles en León se trabajan con las manos y el corazón. El Sol de León | Noticias Locales, Policiacas, sobre México, Guanajuato y el Mundo. Recuperado 7 de julio de 2022, de <https://www.elsoldeleon.com.mx/local/las-pieles-en-leon-se-realizan-con-las-manos-y-el-corazon-oficio-que-representa-anos-de-tradicion-familiar-8393993.html>
25. Martínez-Buitrago, S. Y., & Romero-Coca, J. A. (2017). Revisión del estado actual de la industria de las curtiembres en sus procesos y productos: un análisis de su competitividad. *Revista Facultad de Ciencias Económicas*, 26(1). <https://doi.org/10.18359/rfce.2357>
26. Medina-García, L., Ferreira, F. P., Kurita-Oyamada, H. G., Rodríguez-Bonet, S., Fidel-Galeano, E., & Viera, M. R. (2019). Phytoremediation of chrome in tannery effluents using *Eichhornia crassipes*. *Reportes científicos de la FACEN*, 10(1): 25–36. <https://doi.org/10.18004/rcfacen.2019.10.1.25>
27. Mejía, G. (2006). Aproximación teórica a la biosorción de metales pesados por medio de microorganismos. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 1(1): 77–99. <https://www.redalyc.org/pdf/3214/321428096010.pdf>
28. Meneses-Barroso, Y. M., Patiño-Mantilla, P. A., & Betancur-Pérez, J. F. (2018). Remoción de cromo en aguas residuales industriales mediante el uso de biomasa de *Spirulina* sp, sedimentación primaria y precipitación química. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 10(1): 141–152. <https://doi.org/10.22490/21456453.2326>
29. Ogundele, D. T., Adio, A. A. & Oludele, O. E. (2015). Heavy Metal Concentrations in Plants and Soil along Heavy Traffic Roads in North Central Nigeria. *Journal of Environmental & Analytical Toxicology*, 05(06). <https://doi.org/10.4172/2161-0525.1000334>
30. Ortiz, I., Sanz, J., Dorado, M., & Villar, S. (2007). Técnicas de recuperación de suelos contaminados. En *Vigilancia Tecnológica (VT.6)*. Universidad de Alcalá del Círculo de Innovación en tecnologías Medioambientales y Energía. Recuperado 26 de enero de 2023, de http://www.madrimasd.org/sites/default/files/informacionidi/biblioteca/publicacion/doc/VT/vt6_tecnicas_recuperacion_suelos_contaminados.pdf
31. Ortiz-Gutiérrez, L. J., Soto-Simental, S., Zepeda-Bastida, A., Ocampo-López, J., & Ayala-Martínez, M. (2021). Uso de *Dalbergia palo-escrito* como alternativa vegetal para el curtido de la piel de conejo. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 8(3). <https://doi.org/10.19136/era.a8n3.2967>
32. PlantSnap (5.00.09.). (2017). [Aplicación Móvil]. PlantSnap Inc. https://play.google.com/store/apps/details?id=com.fws.plantsnap2&hl=es_MX&gl=US
33. Romero, J. (2018). Fitorremediación y electrorremediación de suelos contaminados [Tesis de licenciatura]. Universidad de Vigo. <http://calderon.cud.uvigo.es/bitstream/handle/123456789/249/Romero%20Roquette%2c%20Juan%20memoria.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

34. Sailesh, A. R., Riyazuddin, S., Kumar, K. S., Chakraborty, A., & Namuduri, S. (2023). Application of Electroremediation Coupled with Phytoremediation Techniques for the Removal of Trace Metals in Sewage Sludge. *Phytoremediation*, 129-144. https://doi.org/10.1007/978-3-031-17988-4_7
35. Secretaria de Comercio y Fomento Industrial. (2016). NMX-AA-132-SCFI-2016: Muestreo de suelos para la identificación y la cuantificación de metales y metaloides, y manejo de la muestra. <http://www.economia-nmx.gob.mx/normas/nmx/2010/nmx-aa-132-scfi-2016.pdf>
36. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2002). NOM-021-RECNAT-2000, Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=717582&fecha=31/12/2002#gsc.tab=0
37. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2007). NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004: Que establece criterios para la caracterización y determinación de concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio, vanadio y sus compuestos inorgánicos; así como los criterios de remediación. https://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/1392/1/nom-147-semarnat_ssa1-2004.pdf
38. Trejo, R., Esquivel, O., Pedroza, A., Arreola, J., Flores, A., Ruiz, J., & Valdéz, R. (2009). Evaluación de trompillo (*Solanum elaeagnifolium*) en la fitoextracción de plomo y cadmio en suelos contaminados. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, 8: 247–253. <https://docplayer.es/30993774-Evaluation-of-trompillo-solanum-elaeagnifolium-for-fitoextraction-of-lead-and-cadmium-in-contaminated-soil.html>
39. Villen-Guzmán, M., Cerrillo-González, M., Paz-García, J., Vereda-Alonso, C., Gómez-Lahoz, C., & Rodríguez-Maroto, J. (2020). Remediación electrocinética de un suelo real contaminado con plomo asistida con la adición de un agente complejante. *Química Nova*, 43(8), 1078–1085. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170585>



Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica

Página principal: www.riit.com.mx

A Heuristic proposal to minimize bottleneck and waiting time in a Flow Shop

Propuesta de heurística para minimizar el cuello de botella y el tiempo de espera en Flujo Continuo

Ireta-Sánchez, P.H., Martínez-López, R.*

Division of Postgraduate Studies and Research; Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Saltillo, Blvd. Venustiano Carranza No. 2400, Col. Tecnológico, Saltillo, 25280, Coahuila, México, C.P. 25280.
pedro.is@saltillo.tecnm.mx; ricardo.ml@saltillo.tecnm.mx*

Technological Innovation: Proposal of heuristics and relaxed model for batch processing solution.

Industrial application area: Batch processing lines.

Received: october 18th, 2022

Accepted: march 14th, 2023

Abstract

This article presents a Heuristic proposal to minimize two situations that occur when machines do not finish processing batches at the same time: 1) bottleneck when a machine takes more time to finish a batch and 2) waiting time that a batch must wait before being processed by the machine. To minimize both situations, batches must have the same processing time. To solve the above, the Heuristic proposal will select the job with the longest processing time and the number of pieces. Each piece will be a batch. The batch processing time is determined by the piece with the longest processing time. To validate the efficiency of the heuristic, information was collected from a case study of a metal-mechanic company. The Heuristic proposal was compared with other heuristics that have been used to solve the batch processing such as: First in-First Out (FIFO), Last in-First out (LIFO), Best Fit (BFF), First Fit (FF), Batch First Fit (BFF), First Fit Longest Processing Time (FFLPT), Decreasing Batch Size (DECR), Processing time to job size ratio increasing order (PIAI) and the Simplex method. The results showed an considerable reduction of bottleneck and waiting time using the Heuristic proposal compared with the others mentioned heuristic and the Simplex method.

Keywords: Optimization, Flow shop, Heuristic, Simplex, Metaheuristic.

Resumen

Este artículo presenta una propuesta de Heurística para minimizar dos situaciones que ocurren cuando las máquinas no terminan de procesar los lotes al mismo tiempo: 1) cuello de botella cuando una máquina toma más tiempo en terminar de procesar el lote y 2) tiempo de espera que un lote tiene que esperar para ser procesado por la máquina. Para minimizar ambas situaciones, los lotes deberán tener el mismo tiempo de procesamiento. Para resolver lo anterior, la propuesta de Heurística seleccionará el trabajo con el mayor tiempo de procesamiento y número de piezas. Cada pieza será un lote. El tiempo de procesamiento del lote es determinado por la pieza con el mayor tiempo de procesamiento. Para validar la eficiencia de la Heurística, se recolectó información de un caso de estudio de una compañía metal mecánica. La propuesta de Heurística se comparó con otras heurísticas que se han usado para resolver el procesamiento por lotes, tales como: Primera Entrada- Primera Salida (FIFO), Primera Salida-Primera Entrada (LIFO), Primer Ajuste (FF), Mejor Ajuste (BF), Primer Lote Ajustado (BFF), Primer Ajuste Tiempo de procesamiento más largo (FFLPT), Tamaño del Lote Decreciente (DECR), Orden creciente de la relación entre tiempo de procesamiento y tamaño del trabajo (PIAI) y Simplex. Los resultados mostraron reducción considerable del cuello de botella y tiempo de espera al usar la propuesta de Heurística comparado con las otras heurísticas mencionadas y método Simplex.

Palabras claves: Optimización, Flujo continuo, Heurística, Simplex, Metaheurísticas.

1. Introduction

In a batch scheduling problem (BPM), several jobs are grouped simultaneously on a machine where the processing time of the batch (makespan) is equal to the longest processing time of the job in the batch. According to *Ling and Wang (2018)* and *Chang and Wang (2004)* [1-2], BPM is used in manufacturing industries, for example, heat treatment, environment stress, food, pharmaceutical, etc. BPM has been applied as a policy because it has a significant economic impact on reducing costs, e.g., material handling, machine start-up, and line balancing (*Molla et al., 2014*) [3].

Since BPM was introduced as an NP-hard problem by (*Coffman et al., 1984*) [4], several methods have been proposed from an academic point of view (*Chandru and Uzsoy (1993)*, *Bellanger et al., (2012)*, *Fuchigami and S. Rangel (2018)* and *Mathirajan et al., 2014*) [5-8]. Some methods like heuristics sort the jobs according to the processing time of the jobs and then generate the batches initialized;

others sequence the jobs randomly, then the first job is placed in the batch that has enough space to accommodate it, and finally, another heuristic rule combines the manner to sort the jobs according to the processing time to fit the jobs to each batch then. *Ikura and Gimple [9]* introduced the BPM in the literature in 1986, they proposed the FirstOnly-Empty (FOE) algorithm to create batches ordering the jobs in non-decreasing way according to the release (r_j) time for identical job sizes (s_j) and a constant batch processing time. The authors mentioned that machine capacity, C , is the number of jobs that can proceed at the same time. The BPM becomes more complicated when the jobs have different processing times and, to solve it, the authors address two important decisions: 1) How to group jobs into batches? and 2) How to sequence the batches? (*Damodaran et al., (2012)*, and *Fowler and. Mönch (2022)*) [10-11].

At this point, it is necessary to establish that grouping jobs is an equivalent bin-packing problem, so the authors used the rule of first fit (FF) to solve the BPM, and the manner to generate batches depends on the environment of the production process. For a single machine, *Uzsoy* (1994) [12] cited distinct heuristics that use FF: Best Fit (BF), FF Longest Processing Time (FFLPT), FF decreasing job sizes (FFDECR), FF increasing the ratio of the processing time to the size of the job (FFPIA) and FF Shortest Processing Time (FFSPT); the objective function is to minimize the total competition time; the results indicated that the heuristics using LPT present good results. *Ghazvini and Dupont* (1998) [13] researchers proposed three heuristics based on the BF algorithm: Modified best Fit (MBF), BF Greddy Ratio (BFGR), and Dyna Algorithm on a single machine with different jobs size to minimize the mean flow time; the results show that Dyna presents results near to the optimal solution. *Li et al.*, (2005) [14] researchers suggested the Full-batch-longest-processing time rule (FBLPT) to solve a problem where the jobs can be split into different batches in a single batch processing machine with distinct jobs sizes; academics create the Schedule Split Algorithm where they create a short batch where they group the jobs with the same processing time; the paper does not present results. *Chen et al.*, (2011) [15] researchers present a Constrained Agglomerative Clustering of Batches (CACB) to minimize the makespan on a single machine and non-identical job size, where the first part, the jobs with identical processing time are clustered and the jobs with distinct processing time are grouped; the heuristic was compared with Genetic Algorithm (GA) and BFLPT; the outcome shows that CACB performs better than GA and BFLPT. *Li and Li* (2019) [16] present a performer heuristic based on BF and LPT where the jobs are identical in size and processing time, the machine has limited capacity, and the objective function is to minimize the makespan: Enumeration-

based BFLPT decrease (EBFLPTD), the heuristic was compared with another heuristics: BFLPT, FFLPT and BFLPTD and the authors generated 100 random instances; the results indicated that EBFLPTD outperforms the other heuristics. *Miaomiao et al.*, (2020) [17] postulated 3 algorithms: A1, A2, and A3; to solve a batch processing machine with two limited capacity parallel machines, the jobs have the same processing time, a rejection penalty is applied, and the objective function is to minimize the makespan; the researchers conclude that their proposes are better than some existing bio-inspired algorithms.

In the case of the flow shop, *Johson* (1954) [18] propose a rule to obtain the optimal sequence in a flow shop by dividing the jobs in two sets; many researchers have proposed heuristics to solve the flow shop of batch processing machine (*Manjeshwar et al.*, 2009) [19]. *Tang and Liu* (2009) [20] present a heuristic, H, to generate batches to minimize the execution time with jobs that are identical; the manner to schedule them to the machine and transporter; the authors create their instances, and commented on the results show the heuristic performer to find an optimal solution. *Mirsanei et al.*, (2009) [21] established two heuristics: Acceptance/Rejection algorithm (ARA) and FLA algorithm which uses the BFF algorithm and LSPT rule with Simulated Annealing (SA) to minimize the makespan with non-identical jobs sizes.; they generated their instances; the results indicate that FLA algorithm with SA (FLSA) performs better than ARA with SA (ARSA). *Lin and Liao* (2012) [22] established three heuristics: Full Batch Earliest Due Date (FBEDD), Full Batch Family Shortest (FBFS), and Rolling FBFS (RFBFS) to solve a flow shop problem where the jobs have the same family and the batch processing time is common and the batch setup time is constant; the objective is to minimize the weighted sum of makespan, total completion time and total tardiness; to

prove the validity of the heuristic, a mixed integer programming (MIP) model was developed and random instances were created and the study case information was used; the results show that RFBFS is better than the other methods. *Baskar et al.*, (2018) [23] compared different heuristics based on the Nawaz, Ensore, Ham (NEH) algorithm to minimize makespan in a permutation flow shop: NEHOA, NEHOAPSD, NEHO, NEHABXA; NEHABXB, NEHABXC, NEHABYA, NEHABYB, and NEHABYC; they used their instances. *Han and Lee* (2021) [24] researchers modified the NEH algorithm (MNEH) and contrasted it with GA and Iterated Greedy Algorithm (IGE), SA, and simplex method to minimize the makespan in a two-stage assembly flow shop with limited waiting time as a principal constraint; to test the proposal, random instances were generated, the results show that GA and IGE obtained good solutions for small and large problems than the other methods. *Lo and Lin* (2021) [25] researchers created two heuristics: JR-time permutation Heuristic and JR-resource Non-permutation Heuristic and compared them with Ant Colony Optimization to minimize the makespan in a flow shop with two different machines and non-identical jobs, they compared with random instances the heuristic and metaheuristics, the results indicate that JR- resource non-permutation obtained better makespan than the other methods. *Khalifa et al.*, (2021) [26] authors investigated multiple machines in a Flow Shop with the processing time, job weights, and break machines that are fuzzy. The researchers proposed a method that led to an optimal non-crossing sequence to minimize the total elapsed time under a fuzzy environment. The result indicates that the solution approach that no existing risk to applying the solution in a real-world problem because it is easy and simple to understand.

This brief review of the state of the art shows the different solutions methods and

the way to order jobs to generate batches in a single machine and a continuous flow. Most of the methods are based on the First Fit heuristic to generate batches and send them to the processing line. They proposed some dispatching rules, for example, First in First Out, STP, LPT, and LIFO. Further, the authors assume that the sum of all the dimensions of the jobs in each batch cannot exceed the machine capacity, and always propose to minimize the same objective functions that mention by (*Fuchigami and Rangel*, 2018; *Fowler and Mönch*, 2022, and *Pinedo* (2016)) [7,11, 27]. This way of creating batches does not guarantee the machines finish processing them at the same time, which results in two situations that occur on the machines in the processing line 1) bottleneck: the machine needs more time to process a batch because it has a large processing time than the other one and 2) waiting time: the time that the batch is waiting before the machine process it. In both situations, a penalty is applied for each minute of bottleneck and waiting time generated.

Deriving from the above, it is important to consider other objective functions and restrictions that in the study case presented, for example, take it into account that some machines have enough space and consider the number of batches that a production line can process in a work shift.

Table 1 indicates the distinct heuristics and assumptions that different authors mentioned in their investigations to generate batches. The first column gives the name of the heuristic and the authors. The machine environment column indicates if the heuristic was used in a single machine (S) or a flow shop (F). The machine capacity column reveals if the heuristic considers (Y) or not (N) the capacity of the machine to generate the batches. The job size column considers if the sizes of all jobs are Identical or Non-Identical. Column Objective function specifies if the heuristic optimized one or more objective functions

mentioned by (Pinedo, (2016)). Column Batches same pt indicates if the heuristic created batches with the same processing time. Finally, the column Sort jobs shows

the how the heuristic orders the jobs decreasingly (DEC)/Non-Dec or randomly (R).

Table 1. Assumptions that the methods used to create batches.

Heuristic	Machine environment		Machine capacity		Job size		Objective function		Batches same pt		Sort jobs	
	S	F	Y	N	Identical	Non-Identical	Y	N	Y	N	DEC/ NON-DEC	R
FF (Coffman et al. [4])	✓		✓			✓	✓					✓
BFF (Uzsoy 1998 [12])	✓		✓			✓	✓			✓		✓
FFLPT FFDECR FFPIAI FFSPT (Uzsoy 1998 [12])	✓		✓			✓	✓			✓	✓	
MBF, BFGR, Dyna (Ghazvini et al. [13])	✓		✓			✓	✓			✓		✓
FBLPT (Li et al., [14])	✓		✓			✓	✓			✓	✓	
CACB (Chen et al. [15])	✓		✓			✓	✓			✓	✓	
EBFLPTD (Li et al. [16])	✓		✓			✓	✓				✓	
A1, A2, A3 (Miaomiao et al. [17])	✓		✓			✓	✓			✓	✓	
H (Tang and Peng [20])		✓	✓		✓		✓			✓	✓	
ARASA, FLASA (Mirsanei et al. [21])		✓	✓		✓		✓			✓	✓	
FBEDD, FBF, RFBFS (Lin et al. [22])		✓	✓		✓		✓			✓	✓	
Distinct heuristic based on NEH (Baskar et al. [23])		✓	✓		✓		✓			✓	✓	

S=Single machine, F=Flow shop, Y=Yes, N=No, pt.=processing time, DEC=Decrease, NON-DEC= Non-decrease, R=Random.

*Source: Authors

Derive from above, this work presents a Heuristic proposal to generate batches that minimize the bottleneck and the waiting time for the continuous processing flow. This heuristic is based on the way jobs are painted in a metal-mechanical company in Saltillo, Coahuila. The company has a painting line with three cabins in continuous

flow. Each job has the same processing time for all cabins. The cabins have enough space in square meters to process the jobs inside. The jobs are placed in an open area named work in process (WIP) to be sent to the first cabin using the First in First Out (FIFO) rule. The first cabin is the washing cabin where each job is sandblasted to

remove abrasive particles and send to the second cabin. The second cabin is where the jobs are painted in a single color, according to the production schedule, when the jobs are painted, they are sent to the drying cabin. The final cabin is where the jobs are drying. The problem begins when the programmer using the FIFO rule, he does not contemplate the following: 1) the FIFO rule sequences the jobs to the production line beginning with the first job that is at the top of the production schedule list without examining that each job has a different processing time and number of units (elements); 2) each job can be split in a number of elements; 3) the jobs in the production schedule are painted with the same color; and 4) the cabins have enough space to combine different elements of other jobs. The above results in two important situations: 1) the bottleneck that is generated when a workstation takes more time to process a batch and 2) the waiting time that batches stay out at the workstation. Both situations generate an economic loss of about 5,000 USD per minute of bottleneck and 1,000 USD per minute of waiting time. Using the standard file notation established by (Graham, 1979) [28], the case study is denoted as: $F_m|p_j, s_j, batch|f$ where F_m is the Flow shop environment of the machine, p_j is the processing time of the job, s_j is the size of the job, batch all jobs grouped into batches and f is the objective function this case minimize the bottleneck and the waiting time.

To solve the two situations, the Heuristic proposed to generate batches that should have been finishing at the same time to be sent synchronously to the next workstation with the intention to minimize the bottleneck and waiting time. The Heuristic proposed to divide the job with the longest processing time into a number of pieces it had. Each piece is a batch, and the processing time of the batch will be the time it takes the piece to be processed. The rest of the pieces from the other jobs will be

randomly selected to get into the batches, beginning with the first piece, then the second piece, and so on until the sum of their processing time does not exceed the batch processing time. Once all the pieces are in a batch, they are put together in “runs”. The “runs” are the number of batches that will be processed in a work shift. The contribution of this work is not considering the machine's capacity to form batches as a principal constraint as the other methods use. It is necessary to mention that the use of work shifts, allows to know about the number of batches that will be processed during the workday. Also, the Heuristic proposed allows to identify which batches created the bottleneck and idle times to make solutions to prevent economic losses that affect the performance of the company. Finally, an adaptive linear programming model based on the BPM is given which considers the way that the Heuristic proposed generated the batches without considering the capacity of the machine and assuming that the machines have the same processing time, and the work shift is considered knowing the number of the batches that can be process in a work shift.

The remainder of the article is organized as follows: Section 2, a literature review; Section 3, a description of the mathematical model used; Section 4, a description of the methodology; Section 5, a computational experiment and Section 6, conclusions, and future work.

2. Materials and Methods

2.1 Batch processing machine

The manner that the methods mentioned in section 1, to generate batches, consider that once the process has started, it cannot be interrupted, and it is not possible to add or remove jobs to the batch until the process has been completed (Kashan *et al.*, (2006)) [29]. In addition, it is necessary to follow the assumptions mentioned by (Zhou *et al.*, (2016), and Li *et al.*, (2013)) [30-31]: A set of n orders or jobs exists (j). Each job has a processing time (p_j) and a dimension (s_j).

Each machine has a processing capacity (C), and the sum of the dimensions of the jobs should not exceed the capacity of the machine. The jobs are grouped into batches b and form the set of batches to which they belong B . Thus, $b \in B$, the batch processing time will be the time of the job whose processing time is the longer ($P_b = \max_{j \in b} \{p_j\}$). Finally, the objective is to minimize the total processing time (makespan).

Derived from the above, the model that has been used to solve the BPM as follows (Li and Wang (2018), and Kashan et., al (2006)) [1,29].

$$\text{Min makespan} = \sum_{b=1}^n P_{jb} \quad (\text{Eq. 1})$$

Subject to:

$$\sum_{j=1}^m X_{jb} = 1, j = 1, 2, \dots, m \quad (\text{Eq. 2})$$

$$\sum_{j=1}^m s_j X_{jb} \leq C \quad (\text{Eq. 3})$$

$$P_b = \max_{j \in b} \{P_j\} \quad (\text{Eq. 4})$$

$$Cb_{\max} \geq 0, P_b \geq 0 \quad (\text{Eq. 5})$$

$$X_{jb} \in \{0,1\} \quad (\text{Eq. 6})$$

Equation (1) represents the objective function. Equations (2), (3), and (4) state that all jobs must be part of a batch, the sum of the dimensions of the jobs in the batch must not exceed the capacity of the machine, and the batch processing time will be the processing time of the longest job in that batch. Equations (5) and (6) indicate the non-negative and binary values.

It is necessary to comment that the model presented below does not consider to produce batches with the same processing time. This results the presence of bottlenecks and waiting time in the processing line causes economic losses for the companies. In addition, the model does not consider the working shift time to know the number of batches that will be processed during the workday.

2.2 Adaptation model

To solve the problem described in section 1, an adaptation model was generated based on the BPM proposed by (Li and Wang (2018)), [1]. In the adaptation, variables, and restrictions are presented to generate batches that have the same processing time in order to minimize two situations that are responsible for the losses: 1) the bottleneck that is generated when a workstation takes more time to process a batch and 2) the waiting time that batches stay outside at the workstation. In addition, this model considers the following assumptions: once the process has started, it cannot be interrupted, pieces can be exchanged between batches before they enter the processing line or cabin, the batch processing time is determined by the piece that has the longest processing time in the batch; batches are grouped together to form production “runs”; the machine has enough space to process different pieces at the same time. Table 2 presents the symbols and notation used to solve the case study.

Table 2. Symbols and notations used in the relaxed model.

Symbols	Notation
J	Set of n jobs.
j_i	The job selected to form batches. The job with the longest processing time and number of pieces.
j'_i	The jobs do not select to form batches.
$J = j_i + j'_i$	All the jobs will be processed in the processing line.
PCS_i	A piece from j_i .
PCS'_i	A piece from j'_i .
$TPCS_i$	The processing time for PCS_i .
$TPCS'_i$	The processing time for PCS'_i .
b	All PCS_i and PCS'_i are grouped in a batch.

TPb_i	The total processing time of the batch is equal to the processing $TPCS_i$.
P_r	Processing runs. All batches are group in runs.
W_s	Work shift.
TP_r	Processing time of the predecessor run.
TP_{r+1}	Processing time of the successor run.

*Source: Authors.

Derived from above, the model that has been used to solve the problem is as follows:

$$\text{Min } (TP_r - TP_{r+1}) \quad (\text{Eq. 1})$$

Subject to:

$$J = j_i \cup j'_i \quad (\text{Eq. 2})$$

$$j_i = b_i \quad (\text{Eq. 3})$$

$$\sum_{i=1}^n TPCS'_i \leq Tb_i \quad (\text{Eq. 4})$$

$$\sum_{b \in B} PCS_i = 1, \sum_{b \in B} PCS'_i = 1 \quad (\text{Eq. 5})$$

$$\sum_{b=1}^n b_i = P_r \quad (\text{Eq. 6})$$

$$TP_r \leq W_s \quad (\text{Eq. 7})$$

Equation (1) represents the objective function that it is the difference in processing time between the predecessor (TP_r) and the successor (TP_{r+1}), the production runs should be minimal. Constraint (2) is the set of all jobs that are in the production schedule. Constraint (3) explain the piece that has the largest processing time heads the batch. Constraint (4) indicates that the sum of the processing times of the pieces that do not lead each batch must not exceed the processing time that leads the batch. Constraint (5) ensures that each piece will be in a batch. Constraint (6) determines that all batches are grouped in a processing run. Finally, constraint (7) guarantees that the processing time of the run does not exceed the time of the work shift.

2.3. Heuristic proposed.

The Heuristic proposed selects the job with the longest processing time and a number of pieces. The selected job will be divided into pieces and each piece is a batch. The processing time of the batch is the processing time of the selected piece. The remaining jobs are divided into pieces and assigned randomly to the first available batch until the sum of their processing time exceeds the batch processing time. If no batches are available and there are still pieces that have not been assigned, a new batch is generated using the piece with the longest processing time. This process is finished when all the pieces are assigned in a batch. The batches are the added to create "productions run". Each production run cannot exceed the time of the work shift.

Next, subtract the processing time of the predecessor production run and the successor run. If the result is a negative value, it is a bottleneck, otherwise, a waiting time is present. To minimize the bottleneck and waiting time, exchange elements between the runs that created the bottleneck. If the bottleneck decreases and the waiting time increases, continue with the exchange until the bottleneck is close to zero or zero.

The pseudo-code to generate batches is shown below:

Pseudo code of the proposed Heuristic.

START

- (1) Select the job with the longest processing time J_i and number of pieces, PCS_i .
 - (2) Divide J_i in number of pieces PCS_i .
 - (3) Generate one batch b with one PCS_i . The batch processing time is the processing time of PCS_i .
 - (4) Divide the jobs, J'_i , that are not selected in step 1 into elements PCS'_i .
-

- (5) Select the first available b and add pieces randomly from the elements PCS'_i while the sum of their processing time does not exceed the processing time of the batch.
- (6) If the batch is full generate another batch and continue with step 5.
- (7) If there are unassigned pieces PCS'_i in a batch, generate new batches using the PCS'_i with the longest processing time and continue with step 5.
- (8) Sort the batches using the SPT rule.
- (9) Group the batches in runs until their processing time does not exceed the work shift (W_s).
- (10) Subtract the processing time of the predecessor run (TP_r) and the successor run (TP_{r+1}). If the result is a negative value, it is a bottleneck. Otherwise, a waiting time is present.
- (11) To minimize the bottleneck and waiting time, exchange elements between the runs PCS'_i . If the bottleneck decreases and the waiting time increases continue the exchange until the bottleneck is zero or close to zero. If the waiting time decreases but the bottleneck increase stop the process.

END

Figure 1 shows the flow chart of the heuristic proposed to generate batches.

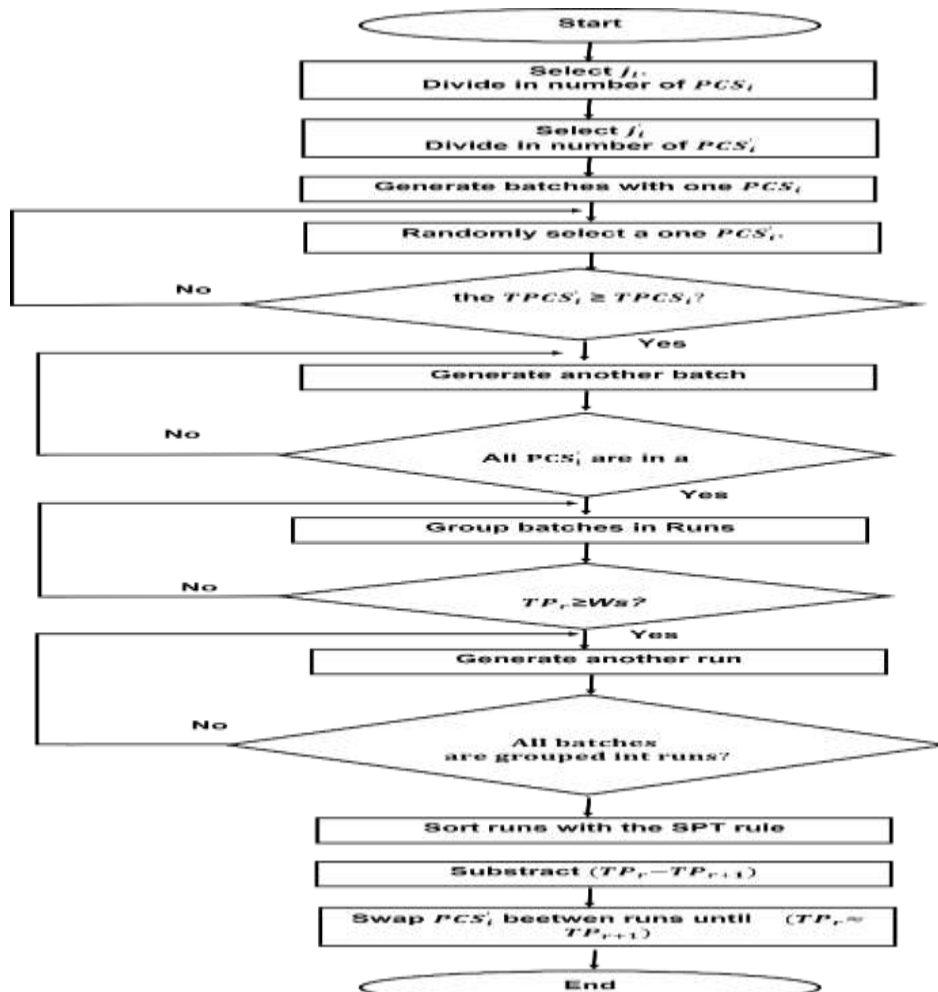


Figure 1. Flow chart of Heuristic proposed.

A comparison between the Heuristic proposed and different heuristics is presented below. The heuristics used in this example were FF, BFF, FLPT, and BFLPT and the programming linear model to generate the batches is mentioned in section 2.1. In this case, the machine capacity is 10 and the work shift is 20 minutes. Table 3 indicates the production schedule with the number of jobs that were used in this

comparison. Column 1 is the number of jobs that will be processed in the processing line. Column 2 expresses the number of pieces for each job, in this case, the number of pieces for the job will be the size (s_j) that different authors used to generate batches. Columns 3 and 4 present the processing time for each piece and the total processing time for per job.

Table 3. Production schedule.

Job number	Number of pieces per job	Processing time per piece	Total processing time
J1	5	2	10
J2	3	3	9
J3	6	10	60
J4	4	5	20
J5	3	4	12

*Source: Authors.

The way in which the different heuristics are obtained is presented below:

- The First Fit (FF) heuristic consists of two steps: Step 1) Sequence the jobs randomly. Step 2) select the job at the head of the list and place it in the first batch with enough space to contain it. If the job does not fit in a batch, a new batch will be created. Repeat step 2 until all the jobs have been put in a batch.
- The Best First Fit is described as follows: Step 1) Sequence the jobs randomly. Step 2) select the job at the top of the list and move it to the batch with the lowest residual capacity (or the batch which is the fullest). In the case that the job does not fit in any existing batch, a new batch will be generated.
- The FFLPT heuristic can be described as follows: Step 1) Order the jobs in decreasing order by their processing time, and 2) Select the job at the head of the list and send it in the first batch with sufficient space to contain it. If the job does

not match in any batch, a new batch will be created. Repeat step 2 until all the job have been placed in a batch.

- The BFLPT heuristic is described as follows: Step 1) Organize the jobs in decreasing order by their processing time. Step 2) Take the job at the top of the list and deposit it in a reachable batch that has the smallest residual capacity. If the job does not match any batch, a new batch will be created. Repeat step 2.

Table 4 displays the results of the four heuristics mentioned before. Rows 2 and 10 are step 1 which indicates in which manner each heuristic sequences the jobs. Rows 3 and 11 present step 2 and the result that the heuristics grouping the jobs to make the batches.

The results, obtained by the heuristic, show that all batches have different processing times. This happens because the heuristic takes as a main restriction that the size of the job in the batch cannot exceed the machine capacity. Also, as mentioned by

(Damodaran and Chang (2007)) [32] the aim of the BPM is to generate a minimum number of batches.

Table 4. Batches generate by FF, BF, FLPT and BFLPT.

FF			BF		
Step 1: random sequence: J2, J5, J1, J3, J4			Step 1: random sequence: J2, J5, J1, J3, J4		
Step 2			Step 2		
Batch	Jobs in the Batch	Processing time in minutes per batch	Batch	Jobs in the Batch	Processing time in minutes per batch
B1	J2, J5	12	B1	J2, J5	12
B2	J1	10	B2	J1, J4	20
B3	J3, J4	60	B3	J3	60
Total processing time = $\sum_{b=1}^n P_{jb}$		82	Total processing time = $\sum_{b=1}^n P_{jb}$		92
FLPT			BFLPT		
Step 1: decreasing jobs according of their processing time: J3, J4, J5, J1, J2			Step 1: decreasing jobs according of their processing time: J3, J4, J5, J1, J2		
Step 2			Step 2		
Batch	Jobs in the Batch	Processing in minutes per batch	Batch	Jobs in the Batch	Processing in minutes per batch
B1	J3, J4	60	B1	J3, J4	60
B2	J5, J1	12	B2	J5, J1	12
B3	J2	9	B3	J2	9
Total processing time = $\sum_{b=1}^n P_{jb}$		81	Total processing time = $\sum_{b=1}^n P_{jb}$		81

*Source: Authors.

In the case of the proposed Heuristic, it selects job 3 to establish the batches. Job 3 has six pieces with 10 minutes of processing time for each piece. The batch processing time is 10 minutes. To identify each piece, three-character were used: the first character indicates the number of pieces; the second character is the letter j which is an abbreviation of job, and the third character means the number of the job where the job comes. For example, 3J5

expresses: 3 elements from job 5; 1j7 is one element of job 7, and so on. Table 5 shows the number of batches created by the Heuristic proposed. Row 1 indicates the number of batches generated by the Heuristic proposed. Row 2 presents the piece with the longest processing time in the batch. Rows 3, 4, and 5 are the different pieces from the other jobs. Finally, row 6 is the batch processing time.

Table 5. Batches generated by the Heuristic proposed.

Number of batches	B1	B2	B3	B4	B5	B6
	1J3 PT: 10	1J3 PT: 10	1J3 PT: 10	1J3 PT: 10	1J3 PT: 10	1J3 PT: 10
	1J2 PT: 3	1J2 PT: 3	1J1 PT: 2	1J1 PT: 2	2J4 PT: 10	1J4 PT: 5
	1J1 PT: 2	1J5 PT: 4	1J5 PT: 4	1J5 PT: 4		
	1J4 PT: 5	1J2 PT: 3	2J1 PT: 4			

Batch processing time $(P_b = \max_{j \in b} \{p_j\})$	10	10	10	10	10	10
--	----	----	----	----	----	----

*Source: Authors.

As can be seen in the table above, the processing time of each batch is the same. This result was obtained because the Heuristic proposed does not consider the machine capacity as a restriction to generate the batches, such is the case of FF, BF, FLPT, and BFLPT. Instead, the Heuristic proposed makes batches with the same

processing time finish their processing at the same time and send them synchronously to the next machine to avoid a bottleneck and waiting time. In addition, figure 2 shows the comparison of the total processing time. It can be seen that the Heuristic proposed has less total processing time than the others.

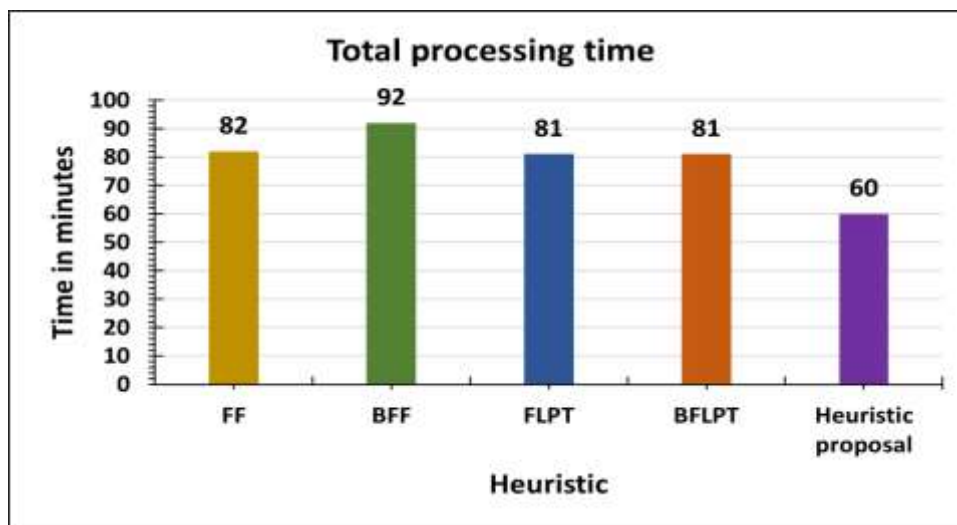


Figure 2. A comparative between the distinct heuristics and the Heuristic proposed.

Source: Authors.

3. Computational experiment

As mentioned in section 1, this problem is inspired by a real study case. Some companies combine distinct jobs because they have a common process, and the capacity of the machine (cabin) is not considered.

To verify the effectiveness of the Heuristic proposed, information was collected from the case study: 1) the dimensions in square

meters of the WIP, wash and paint cabins; 2) a production schedule that shows the number of elements in each job, dimensions, and processing time of each one. Figure 3 shows the processing flow for the painting area. The WIP is an open area with enough space where the jobs are ordered using the FIFO rule. The jobs are painted in the same color. The next three cabins where the jobs are sandblasted, painted, and dried have enough space to process batches.

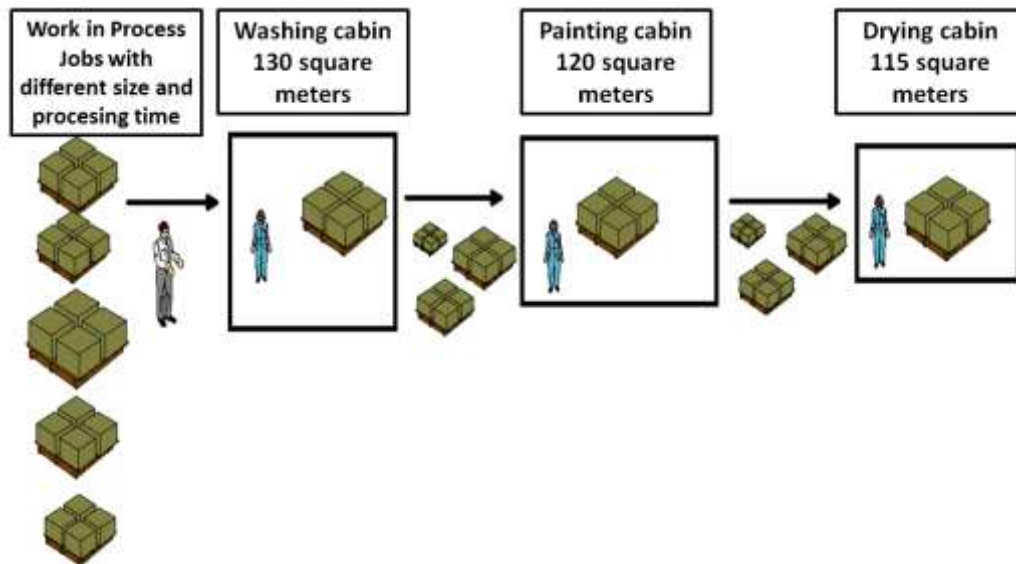


Figure 3. Processing flow. Source: Authors.

Table 6 shows the data collected in the framework of the study. Column 1 shows the order number, columns 2 and 3 are the

dimensions and processing time of each piece of the job; the fourth column shows the number of piece of each job.

Table 6. Study case - Production Schedule.

Order Number	Dimensions Square Meters per piece	Process Time In minutes per piece	Quantity of pieces	Total Dimension	Total Time
j1	10.63	14.02	6	63.80	60.17
j2	9.83	13.23	10	98.33	132.30
j3-a	11.55	88.99	8	80.82	622.91
J3-b	11.55	88.99	7	92.37	711.89
j4	3.86	2.53	11	42.56	714.67
j5	7.11	9.25	15	106.67	1130.10

Source: Authors.

The capacity of the paint cabin is indistinct, and the work shift is 200 minutes. FIFO rule obtained -1069.35 minutes of bottleneck and 0 minutes of waiting time. This result occurred because the programmer introduces one job at a time. It is noteworthy to mention that with the FIFO rule the company loses \$5,349,675 of dollars.

Table 7 shows the batches generated by the proposed heuristic before grouping them into runs. To understand the information, a vocabulary is presented: The column named Batch number indicates the number of the generated batch *B1*, *B2*, *B3*; the

nomenclature, for example, J3 means one piece from job number 3, J4 indicates one piece from job 4 and so on. The column named PT per job means the processing time per job; the first number is the processing time of head of the batches and the rest of the numbers are the processing time of remainder pieces of the batch. For example, *B1* is the batch number one, J3 is one piece from job number 3 and the processing time for this job is 88.99 minutes (in this case it is the total processing time of the batch); J4 means one piece from job number 4 and the number 64.97 is the processing time for the piece.

Table 7. Generated batches with the proposed Heuristic.

Batch number	PT per job	Batch number	PT per job	Batch number	PT per job	Batch number	PT per job
B1		B2		B3		B4	
J3	88.99	J3	88.99	J3	88.99	J3	88.99
J4	64.97	J5	75.34	J4	64.97	J4	64.97
		J2	13.23				
Batch number	PT per job	Batch number	PT per job	Batch number	PT per job	Batch number	PT per job
B5		B6		B7		B8	
J3	88.99	J3	88.99	J3	88.99	J3	88.99
J4	64.97	J5	75.34	J5	75.34	J5	75.34
J1	10.03						
Batch number	PT per job	Batch number	PT per job	Batch number	PT per job	Batch number	PT per job
B9		B10		B11		B12	
J3	88.99	J3	88.99	J3	88.99	J3	88.99
J4	64.97	J5	75.34	J4	64.97	J1	10.03
Batch number	PT per job	Batch number	PT per job	Batch number	PT per job	Batch number	PT per job
B13		B14		B15		J5	75.34
J3	88.99	J3	88.99	J3	88.99		
J1	10.03	J5	75.34	J5	75.34		
J5	75.34						
Batch number	PT per job	Batch number	PT per job	Batch number	PT per job	Batch number	PT per job
B16		B17		B 18	Time	B19	
J5	75.34	J5	75.34	J5	75.34	J5	75.34
J4	64.97	J2	13.23	J4	64.97	J4	64.97
		J2	13.23				
Batch number	PT per job	Batch number	PT per job	Batch number	PT per job		
B20		B21		B22			
J5	75.34	J5	75.34	J5	75.34		
J2, J2, J2	39.69	J4	64.97	J2	13.23		
J1	10.3			J2	13.23		
				J2	13.23		
				J1	10.03		
				J2	13.23		
				J1	10.03		
				J1	10.03		

B=Batch, Time: processing time in minutes.

Source: Authors.

Using the Heuristic proposed as a solution method, 12 batches with 88.99 minutes of processing time and 7 batches with 75.30 minutes were obtained. The results allow us to know the number of batches that have different processing times and when they are grouped in run aids, which of them generate bottleneck and waiting time.

Figure 4 presents the processing time per run. Runs 1 through 7 have the same time because each run contains batches whose

processing time is one of the pieces with the longest time. Run 8 has a processing time of 164.33 minutes because it was formed with two batches at different times, one with 88.99 minutes and the other with 75.34 minutes, respectively. Finally, runs 9 to 11 contain two batches with the same processing time of 75.34 minutes. The bottleneck obtained was -27.3 minutes and 0 minutes for waiting time. The results allow us to know the number of batches that have different processing times. When

grouped in runs, it helps them generate the bottlenecks and waiting time. With the Heuristic proposed, the company loses

\$27,300 dollars per minute generated by the bottleneck.

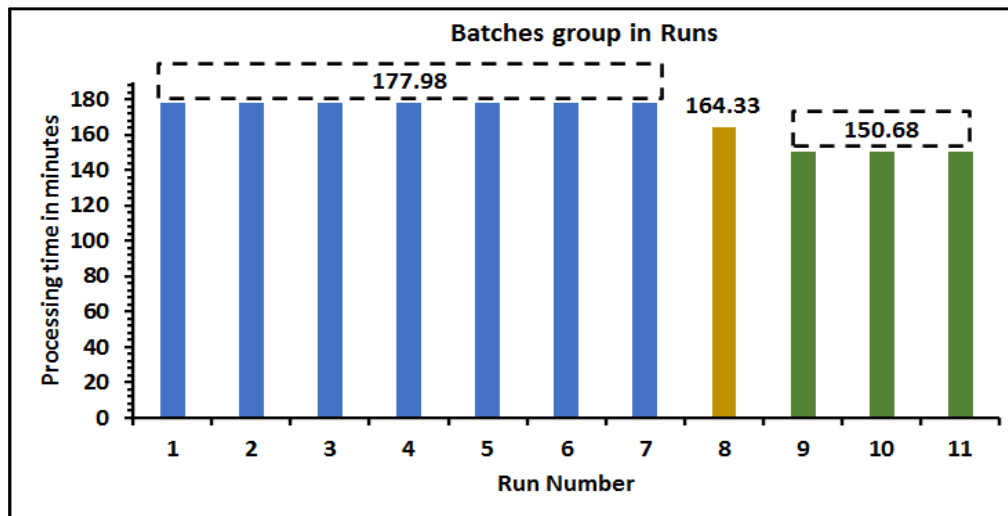


Figure 4. Generated runs.

Source: Authors.

Figure 5 illustrates a comparison of the processing times between the FIFO rule and the Heuristic proposed. It can be observed that when jobs are entered using the FIFO rule, the processing times are different because the rule does not group distinct jobs

to form batches. The runs that have the same processing time is because the Heuristic proposed selects batches with the same time; otherwise, the runs that do not have the same time is because it has two or more batches with different time.

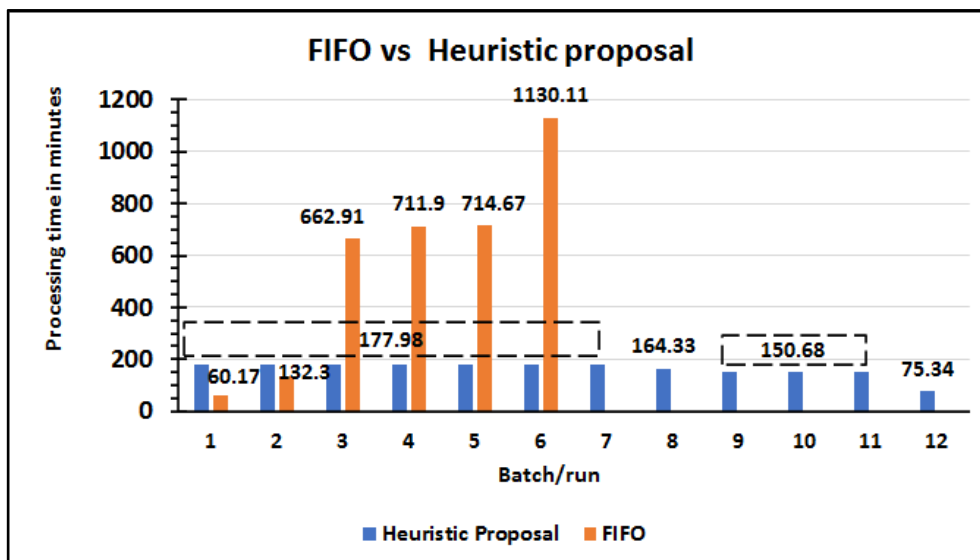


Figure 5. FIFO vs Heuristic proposed.

Source: Authors.

On the other hand, the Heuristic proposed was compared with the Simplex method using a commercial solver. The results obtained were nineteen batches: fourteen with 177.97 minutes, one batch with 153.96

minutes of processing time, three batches with 194.67 minutes, and another batch with 69.97 minutes. The results were obtained because Simplex performs combinations that comply with the

constraints of the problem: the batch processing machine and the duration of the work shift. Also, the results indicate that Simplex does not generate good results as mentioned by (Lo and Lin (2021) [25]. The Simplex method obtained -40.95 minutes of bottleneck and 153.95 minutes of waiting time.

In this case, Simplex method generated losses to the company in us\$204,750, of bottleneck and us\$153,950 of waiting time. Table 8 shows the results of the batches obtained by Simplex. The first column is the number of batches created; the second column is the number of pieces contained in the batch, and the third column is the processing time.

Table 8. Processing Time per Batch Obtained by Simplex.

Batch Number	Number of pieces	Processing time in minutes
1-14	3	177.97
15	1	153.96
16-18	1	194.97
19	1	69.97

Source: Authors.

As mentioned, the Heuristic proposed was compared with other heuristics that have been used by other authors to solve the BPM. Table 9 shows the result obtained by

LIFO, SPT, LPT, BFF, FFLPT FFDECR, and FFPIAI using the data collected from the study case.

Table 9. Comparative between different heuristics.

Author	Method	Bottleneck	Waiting time	USD Bottleneck	USD Waiting time
[22]	LIFO	0	1069.93	0	\$1,069,930
[22]	SPT	-1069.35	0	\$5,346,750	0
[22]	LPT	0	1069.35	0	\$1,069,930
[13]	BATCH FIRST FIT (BFF)	-1649.46	1741.23	\$8,247,300	\$1,741,230
[13]	FFLPT	-60.36	17.502	\$301,800	\$17,502
[13]	FFDECR	-42.86	0	\$214,300	0
[13]	FFPIAI	-1274.63	620.13	\$6,373,150	\$620,13

Source: Authors.

The table shows that the result obtained by the SPT rule is the same as the result obtained by FIFO. This occurs because the SPT organizes the jobs from shortest to longest according to the processing times, and in this case, it matched the ordering by FIFO. The result of LPT was obtained because this method orders the jobs from longest to shortest, so the difference between the previous batch minus the next batch is always a positive number, which indicates that the order will be waiting for a certain time to be processed. For the rest of the rules, a random sequence is generated to create batches, and these result in different

processing times, leading to the presence of bottleneck and waiting time. If these results are compared with those obtained by the Heuristic proposed, the latter reduced considerably the bottleneck and did not generate waiting time; both results are obtained because the Heuristic proposed from the beginning generates batches with each of the pieces that have the longest processing time and groups them in runs taking the duration of the work shift.

As a part of the validation of the Heuristic proposed, five random instances were generated. The value of each parameter was

as similar as possible to the collected data in the study case. It is necessary to mention that only one value was generated by each variable as mentioned by (Tallard, 1993) ([33]). The value of each parameter was considered a discrete variable with a uniform distribution. For this purpose, the parameters used are: Total processing time of each job *Uniform* $[1, \max T_t]$, machine dimension *Uniform* $[1, \max D_t]$, and number of pieces per job, *Uniform* $[1, \max C_e]$, where *max* is the maximum value of each of the parameters of the study case data.

Table 10 shows a comparison between the results of the waiting time and the bottleneck obtained by the Heuristic proposed and different dispatch rules (heuristic). The row is the name of the instance. The Method column indicates the name of the heuristic, and the Waiting time and Bottleneck columns presents the results in minutes by each heuristic. The number in the box indicates the total time obtained by the different solution methods. If the value is positive, it refers to a waiting time, otherwise it is a bottleneck.

Table 10. Results obtained Bottleneck and waiting time.

Instance 1			Instance 2		
Method	Waiting time	Bottleneck	Method	Waiting Time	Bottleneck
H	92	0	H	0	-32
FIFO	126	0	FIFO	179	0
LIFO	0	-126	LIFO	0	-179
STP	126	0	STP	0	-37
LTP	0	-126	LTP	179	0
BFF	710	-126	BFF	179	0
FFLPT	126	0	FFLPT	179	0
Instance 3			Instance 4		
Method	Waiting time	Bottleneck	Method	Waiting time	Bottleneck
H	20	0	H	3	0
FIFO	62	-44	FIFO	450	-270
LIFO	44	-62	LIFO	270	-450
STP	0	-42	STP	0	-335
LTP	160	0	LTP	335	0
BFF	62	-44	BFF	270	-129
FFLPT	42	0	FFLPT	270	0
Instance 5					
Method	Waiting time	Bottleneck			
H	41	0			
FIFO	620	-1690.07			
LIFO	1750.24	-620.13			
STP	0	-1274.63			
LTP	1274.63	0			
BFF	787.04	-1202.51			
FFLPT	1274.63	0			

H: Heuristic proposed, BFF: Best First Fit, FFLPT: Longest Processing Time First Fit.
Source: Authors.

The results show that the Heuristic proposed does not generate a bottleneck for instances 1, 3, 4, and 5; in instance 2 LIFO, STP, LTP, BFF, and FFLPT have not obtained a bottleneck. For the waiting time only in instance 2, the Heuristic proposed did not present waiting time; for instance, 1 and 2 LIFO rule did not show waiting time; for instances 2,3,4, and 5, the STP rule did not generate any waiting time.

The results obtained for instances 1,3,4, and 5 indicate that the Heuristic proposed did not generate a bottleneck, which means that there is no penalty of USD 5,000 dollars per minute; otherwise, in instance 2, the proposed created a bottleneck, and it was penalized with USD 160,000 although it was less than the penalty of USD 895,000 and USD 185,000 by using LIFO and STP rules.

For the waiting time, the Heuristic proposed in instances 3, 4, and 5 generated lower values than most of the dispatching rules except with STP; these values indicate that the difference in processing time between the predecessor and successor runs is minimal. In the case of instance 1, although STP rule obtained a shorter waiting time compared to FIFO, STP, BFFA, and FFLPT, because it orders the jobs from the shortest to the longest processing time and add job by job to each batch until the batch is full. The results indicate that the time was not as close to zero, which indicates that the processing time of the predecessor batch is longer than that of the successor. In general, the Heuristic proposed allows for reducing the penalty of USD 1,000 per minute that a run must wait to be processed.

Lastly, the Heuristic proposed performed better than the other heuristics since it can form batches by dividing the job whose processing time is the longest of the whole production calendar, in addition, once the batches are formed, it makes runs considering the work shift time leading to know the total production time needed.

Conclusions and future work

In this article, a new Heuristic proposed to generate batches with the same processing time was proposed to help solve the BPM. In the same order, a new relaxed programming model was suggested. This model considers how to generate batches to minimize the bottleneck and waiting time.

The Heuristic proposed reduces the bottleneck in a 100% compared with FIFO rule. On the other hand, compared to the Simplex method, the Heuristic proposed reduces by 33.3% the bottleneck and 100% the waiting time. In the same direction, five non-deterministic random instances were generated based on the information collected from the case study. The results indicate that the Heuristic proposed compared to the LPT, SPT, LIFO, FIFO, BFF and FFLPT heuristics, minimizes the bottleneck and waiting time in an 82.7% and 72.4% respectively.

In conclusion, the Heuristic proposed generates batches with equal processing times if the selected job has enough pieces to head all batches without need to create new ones with other pieces. Also, it can be used in production process where the jobs can be separated in pieces. Finally, the heuristic allows to know the number of batches that can process in a work shift.

As a future work, it is proposed to include new restrictions to adjust the model in a neutrosophic environment, as mentioned by (*Kumar and Khalifa (2021)*) [34], to establish a range of acceptance of economic losses causes by a machine failure, absence of operators, lack of material and transportation between different production area. Moreover, include some decision variables correlations, as mentioned in the investment portfolio by (*Kumar and Khalifa (2020)*) [35], to give the advantages for the investors the decision to conclude a good return rate, risk loss rate and bank interest rate. Also, add human restriction,

for example, occupational safety and environmental care.

Finally, the use of other approximation algorithms such as metaheuristic will be studied.

Author Contributions

Conceptualization, P.I. methodology, P.I.; validation, P.I.; writing-original draft preparation, P.I.; writing-review and editing, R.M.; supervision, R.M. The authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Acknowledge

The author wishes to thank to the Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Saltillo for the support obtained from the project 8479.20-P. Also, to the National Council of Science and Technology (CONACYT) for the scholarship granted.

Conflicts of Interest

The authors declare do not have conflict any conflict of interest.

References

- [1] X. Li y Y. Wang, «Scheduling Batch Processing Machine Using MAX-MIN Ant System Algorithm Improved by Local Search Method,» *Hindawi-Mathematical Problems in Engineering*, vol. 2018, pp. 1-10, 2018, doi:10.1155/2018/3124182.
- [2] P. Chang y H. Wang, «A heuristic for a batch processing machine scheduled to minimise total completion time with non-identical job sizes,» *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, vol. 24, pp. 614-620, 2004, doi:10.1007/s00170-003-1740-9.
- [3] S. Molla-Alizadeh-Zavardehi, R. Tavakkoli-Moghaddam y F. Hosseinzadeh Lotfi, «Hybrid Metaheuristics for Solving a Fuzzy Single Batch-Processing Machine Scheduling Problem,» *The Scientific World Journal*, vol. 14, pp. 1-10, 2014, doi: 10.1155/2014/214615.
- [4] E. G. Coffman Jr., M. R. Garey y D. S. Johnson, «Approximation Algorithms for Bin-Packing — An Updated Survey,» *Algorithm Design for Computer System Design*, vol. 284, pp. 49-106, 1984, doi: 10.1007/978-3-7091-4338-4_3.
- [5] V. Chandru y R. Uzsoy, «Minimizing total completion time on a batch processing machine with job families,» *Operations Research Letters*, vol. 13, pp. 61-65, 1993, doi:10.1016/0167-6377(93)90030-K.
- [6] A. Bellanger, A. Janiak, M. Y. Kovalyov y A. Oulamara, «Scheduling an unbounded batching machine with job processing time compatibilities,» *Discrete Applied Mathematics*, vol. 12, pp. 15-23, 2012, doi:10.1016/j.dam.2011.09.004.
- [7] H. Y. Fuchigami y S. Rangel, «A survey of case studies in production scheduling: Analysis and perspectives,» *Journal of Computational Science*, vol. 25, pp. 425-436, 2018, doi:10.1016/j.jocs.2017.06.004.
- [8] M. Mathirajan, R. Gokhale y M. Ramasubrama, «Modeling of Scheduling Batch Processor in Discrete Parts Manufacturing,» *the Supply Chain Strategies, Issues and Models*, London., Springer-Verlag, 2014, pp. 153-192, doi:10.1007/978-1-4471-5352-8_7.

- [9] Y. Ikura y M. Gimple, «Efficient scheduling algorithms for a single batch processing machine,» *Operations Research Letters*, vol. 5, n° 2, pp. 61-65, 1986, doi:10.1016/0167-6377(86)90104-5.
- [10] P. Damodaran, D. A. Diyadawagamage, O. Ghrayeb y M. C. Vélez-Gallego, «A particle swarm optimization algorithm for minimizing makespan of nonidentical parallel batch processing machines,» *International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, vol. 58, p. 1131–1140, 2012, doi:10.1007/s00170-011-3442-z.
- [11] J. W. Fowler y L. Mönnch, «A survey of scheduling with parallel batch (p-batch) processing,» *European Journal of Operational Research*, vol. 298, pp. 1-24, 2022, doi: 10.1016/j.ejor.2021.06.012.
- [12] R. Uzsoy, «Scheduling a single batch processing machine with non identical job sizes,» *International Journal of Production Research*, vol. 32, pp. 1615-1635, 1994, doi:10.1080/00207549408957026.
- [13] F. J. Ghazvini y L. Dupont, «Minimizing mean flow times criteria on a single batch processing machine with non-identical jobs sizes,» *International Journal of Production Economics*, vol. 55, pp. 273-280, 1998, doi:10.1016/S0925-5273(98)00067-X.
- [14] S. Li, G. Li, X. Wang y Q. Liu, «Minimizing makespan on a single batching machine with release times and non-identical job sizes,» *Operations Research Letters*, vol. 33, pp. 157-164, 2005, doi:10.1016/j.orl.2004.04.009.
- [15] H. Chen, D. Bing y G. Q. Huang, «Scheduling a batch processing machine with non-identical job sizes: a clustering perspective,» *International Journal of Production Research*, vol. 49, n° 19, pp. 5755-5778, 2011, doi:10.1080/00207543.2010.512620.
- [16] X. Li, Y. Li y Y. Wang, «Minimizing makespan on a batch processing machine using heuristics improved by an enumeration scheme,» *International Journal of Production Research*, vol. 55, n° 1, pp. 176-186, 2016, doi:10.1080/00207543.2016.1200762.
- [17] J. Miaomiao, L. Xiaoxia y L. Wenchang, «Single-Machine Parallel-Batch Scheduling with Nonidentical Job Sizes and Rejection,» *Mathematics*, n° 258, 2020, doi.10.3390/math8020258.
- [18] M. Johnson, «Optimal two- and three-stage production schedules with setup times included,» *Naval Research Logistics Quarterly*, n° 1, pp. 61-68, 1954, doi:org/10.1002/nav.3800010110.
- [19] P. K. Manjeshwar, P. Damodaran y K. Srihari, «Minimizing makespan in a flow shop with two batch-processing machine using simulated annealing,» *Robotics and Computer-Integrated Manufacturing*, vol. 25, pp. 667-679, 2009, doi:10.1016/j.rcim.2008.05.003.
- [20] L. Tang y P. Liu, «Two-machine flowshop scheduling problems involving a batching machine with transportation or deterioration consideration,» *Applied Mathematical Modelling*, vol. 33, pp.

- 1187-1199, 2009, doi: 10.1016/j.apm.2008.01.013.
- [21] H. S. Mirsanei, B. Karimi y F. Jolai, «Flow shop scheduling with two batch processing machines and nonidentical job sizes,» *International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, vol. 45, n° 553, p. 45, 2009, doi: 10.1007/s00170-009-1986-y.
- [22] R. Lin y C.-J. Liao, «A case study of batch scheduling for an assembly shop,» *International Journal of Production Economics*, vol. 139, pp. 473-483, 2012, doi:10.1016/j.ijpe.2012.05.002.
- [23] A. Baskar, M. A. Xavier y . N. Na, «Analysis of a Few Simple Heuristics for the Permutation Flow Shop Scheduling Problems for any Batch Processing Industry,» *Materials Today: Proceedings*, vol. 5, p. 11762–11770, 2018, doi: 10.1016/j.matpr.2018.02.145.
- [24] J.-H. Han y . J.-Y. Lee, «Heuristics for a Two-Stage Assembly-Type Flow Shop with Limited Waiting Time Constraints,» *Applied Sciences*, vol. 11, n° 23, 2021, doi: 10.3390/app112311240.
- [25] T.-C. Lo y B. Lin, «Relocation Scheduling in a Two-Machine Flow Shop with Resource Recycling Operations,» *Mathematics*, vol. 9, n° 1527, 2021, doi: 10.3390/math9131527.
- [26] H. A. E.-W. Khalifa, S. S. Alodhaibi y P. Kumar, «Solving Constrained Flow-Shop Scheduling Problem through Multistage Fuzzy Binding Approach with Fuzzy Due Dates,» *Advances in Fuzzy Systems*, p. 8, 2021, doi: 10.1155/2021/6697060.
- [27] M. L. Pinedo, *Scheduling: Theory, Algorithms, and Systems*. Fifth Edition, New York: Springer, 2016.
- [28] R. L. Graham, E. L. Lawler, J. K. Lenstra y A. H. RinnooyKan, «Optimization and Approximation in Deterministic Sequencing and Scheduling: a SURVEY,» *Annals of Discrete Mathematics*, vol. 5, pp. 287-326, 1979, doi: 10.1016/S0167-5060(08)70356-X.
- [29] A. H. Kashan, B. Karimi y F. Jolai, «Minimizing Makespan on a Single Batch Processing Machine with Non-identical Job Sizes: A Hybrid Genetic Approach,» *de European Conference on Evolutionary Computation in Combinatorial Optimization*, Budapest, 2006, doi: 10.1007/11730095_12.
- [30] S.Zhou, M. Liu, H.Cheng y X. Li, «An effective discrete differential evolution algorithm for scheduling uniform parallel batch processing machines with non-identical capacities and arbitrary job sizes,» *International Journal of Production Economics*, vol. 179, pp. 1-11, 2016, doi:10.1016/j.ijpe.2016.05.014.
- [31] X. Li, Y. Huang, Q. Tan y H. Chen, «Scheduling unrelated parallel batch processing machines with non-identical job sizes,» *Computers & Operations Research*, vol. 12, pp. 2983-299, 2013, doi.org/10.1016/j.cor.2016.08.015.
- [32] P. Damodaran y P.-Y. Chang, «Heuristics to minimize makespan of parallel batch processing machines,» *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, vol. 37, p. 1005–1013, 2007, doi: 10.1007/s00170-007-1042-8.

- [33] E. Talliard, «Benchmarks for basic scheduling problems,» *European Journal of Operational Research*, vol. 64, pp. 278-285, 1993, doi: 10.1016/0377-2217(93)90182-M.
- [34] H. E. Khalifa, P. Kumar y S. Mirjalili, «A KKM approach for inverse capacitated transportation problem in neutrosophic environment,» *Sādhanā- Springer Nature*, vol. 46, n° 166, 2021, doi: 10.1007/s12046-021-01682-5.
- [35] P. Kumar y H. A. El- Wahed Khalifa, «Solving fully neutrosophic linear programming problem with application to stock portfolio selection,» *Croatian Operational Research Review*, n° 11, pp. 165-176, 2020, doi:10.17535/crorr.2020.0014.



Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica

Página principal: www.riit.com.mx

Valorización del fruto de *Parmentiera aculeata* en nutrición animal: su uso como sustrato para el crecimiento de dos cepas probióticas

Valorization of the fruit of *Parmentiera aculeata* in animal nutrition: its use as substrate for the growth of two probiotic strains

Acuña-Juárez, L.^a, Aguilar-Zárate, P.^a, Muñoz-Márquez, D.B.^b, Wong-Paz, J.E.^b, Veana, F.^{a*}

^a Laboratorio de Análisis de Alimentos, Departamento de Ingenierías, Tecnológico Nacional de México/ IT de Ciudad Valles, C.P. 79010, Ciudad Valles, San Luis Potosí, México.

^b Facultad de Estudios Profesionales Zona Huasteca, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, C.P. 79060, Ciudad Valles, San Luis Potosí, México.

lilianaacunajuares@gmail.com; pedro.aguilar@tecvalles.mx; diana.marque@tecvalles.mx; jorge.wong@uaslp.mx; fabiola.veana@tecvalles.mx*

Innovación tecnológica: Involucra la valorización del fruto de *Parmentiera aculeata* como una alternativa en el crecimiento de probióticos a piensos de la formulación de alimentos que benefician la nutrición animal.

Área de aplicación industrial: La innovación tecnológica presentada en este artículo podría ser aplicada en la industria agroalimentaria enfocada en nutrición animal.

Recibido: 03 june 2022

Aceptado: 27 january 2023

Abstract

In Mexico, there are fruits with low biotechnological exploitation, such as the fruit of *Parmentiera aculeata*, whose uses are timber, medicinal and edible for humans and animals. In this sense, it is important to use ingredients that nourish, promote digestive health and improve growth of livestock production systems. Precisely, probiotics are microorganisms that confer health to the host and there is interest in the search for new sources of substrates for them. Therefore, the objective of the present work was to use the fruit of *P. aculeata* as a substrate for the growth of probiotic bacteria in solid-state fermentation (SSF). A chemical-proximal analysis of the fruit was carried out according to AOAC methodology. Two probiotic strains (*Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* ATCC25302 and *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* ATCC 14917) were used for the development of SSFs using an experimental design with L9 (3³) orthogonal arrangement

proposed by Taguchi. Three parameters were evaluated: pH, humidity and inoculum concentration at three levels: 4.0, 5.0 and 6.0; 50, 60 and 70%; and 5, 10 and 15%, respectively. Incubation was carried out at 37°C for 120 hours. Growth was reported as cells/g dry bagasse (cel/gbs). From the chemical-proximal composition of the fruit, moisture and ash values are similar to those reported; fat and protein values are higher and carbohydrate values are lower than reported. The differences can be attributed to the geographical area and time of fruit harvesting. The optimum growth conditions for both strains was treatment 3: levels 1, 3 and 3 (pH 4.0, 70% moisture and 15% inoculum). The maximum growth value was 1.42×10^9 cells/gbs for the *L. plantarum* subsp. *plantarum* ATCC14917 strain, which exceeded 2.34 times the growth of the *L. paracasei* subsp. *paracasei* ATCC25302 strain. After validation, we observed a value of 3.8 times higher than the value predicted by the Taguchi model. These results provide interesting information for the area of animal nutrition, particularly for the design of feedstuffs that improve growth in livestock production systems.

Keywords: Chote, Solid state fermentation, Probiotics, Taguchi.

Resumen

En México existen frutos de baja explotación biotecnológica, tal como el fruto de *Parmentiera aculeata*, cuyos usos son el maderable, medicinal y comestible (humanos y animales). En este sentido, es importante el uso de ingredientes que nutran, promuevan la salud digestiva y se mejore el crecimiento en los sistemas de producción pecuaria. Precisamente, los probióticos son microorganismos que confieren salud al huésped y existe interés por la búsqueda de nuevas fuentes de sustratos para estos. Por lo cual, el objetivo del trabajo fue utilizar el fruto de *P. aculeata* como sustrato para el crecimiento de bacterias probióticas en fermentación en estado sólido (FES). Los frutos se sometieron a un análisis químico-proximal. Posteriormente se evaluó el crecimiento (células/g bagazo seco, cel/gbs) de dos cepas probióticas en el desarrollo de las FES: *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* ATCC25302 y *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* ATCC 14917. Se aplicó un diseño experimental con arreglo ortogonal L9 (3^3) propuesto por Taguchi. Se evaluaron tres variables con tres niveles: pH (4.0, 5.0 y 6.0), humedad (50, 60 y 70 %) y concentración de inóculo (5, 10 y 15 %) y las FES se desarrollaron a 37 °C por 120 horas. De la composición químico-proximal del fruto, se encontraron diferencias en el contenido de grasas y proteínas con los reportes previos. Las condiciones óptimas de crecimiento en las FES para ambas cepas fueron pH 4.0, 70% de humedad y 15% de inóculo y se observó un máximo crecimiento de 1.42×10^9 cel/gbs para la cepa de *L. plantarum* subsp. *plantarum* ATCC14917 que superó 2.34 veces el crecimiento de la cepa de *L. paracasei* subsp. *paracasei* ATCC25302. Tras la validación, se superó 3.8 veces el valor predicho por el modelo de Taguchi. Estos resultados aportan información interesante para el área de nutrición animal, particularmente para el diseño de alimentos que mejoren el crecimiento en los sistemas de producción pecuaria.

Palabras clave: Chote, Fermentación en estado sólido, Probióticos, Taguchi.

1. Introducción

Los pastos y forrajes son la fuente principal de alimentación en los sistemas de producción pecuaria ya que son económicos y aportan el 40-90% de los nutrientes. Sin embargo, estos son influenciados por las épocas de lluvias observándose una baja o alta cantidad de biomasa (1). Una alternativa para esta situación es el ensilaje, el cual no está limitado por las condiciones climáticas. El ensilaje consiste en someter a una fermentación ácido-láctica el forraje en condiciones anaerobias (1,2). La producción pecuaria para fines comerciales requiere una nutrición animal eficiente con el apoyo de aditivos que logren incrementar la efectividad del alimento, disponibilidad de nutrientes y su absorción en el tubo digestivo, además de modular la microbiota intestinal y promover su crecimiento (3). Dentro de los aditivos que se utilizan se encuentran los antibióticos, enzimas, ácidos orgánicos, vitaminas y minerales, prebióticos y probióticos, entre otros (1,3–5). Los prebióticos se refieren a compuestos bioactivos que, generan sinergia junto con los probióticos y ofrecen salud al huésped (6). Dentro de los prebióticos se pueden encontrar la inulina, mananoligosacáridos, fructooligosacáridos, principalmente (7,8). Mientras tanto, los probióticos se definen como “microorganismos vivos que confieren salud al huésped, cuando son administrados en dosis adecuadas” (9,10). Actualmente, las evidencias científicas han demostrado que los probióticos son una alternativa de aditivos alimentarios que, aplicados en la alimentación de cerdos, son capaces de modular la respuesta inmune y mejorar los parámetros zootécnicos de conversión alimenticia y ganancia de peso en los sistemas agropecuarios (11). Además, existe un efecto positivo en los cerdos destetados cuando son intervenidos con *Lactobacillus plantarum* evidenciando una ganancia de peso (12). *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactobacillus*

acidophilus también ha demostrado influencia en la ganancia de peso y peso al destete en cerdos (13). En relación al ensilaje, *Lactobacillus casei* var. *rhamnosus* se aplicó en concentración de 15% y el arroz cocido en la misma concentración para la elaboración de ensilados de residuos de pescado (14). En la temática de encapsulados, se ha evidenciado el efecto de la gelatina y el almidón como matrices transportadoras de *Lactobacillus reuteri* DSPV002C que se suministraron a cerdos, demostrando que los metabolitos de la cepa favorecen al desarrollo de las vellosidades intestinales y por ende mejorar la absorción de nutrientes (15).

En México existen frutos de baja explotación biotecnológica, tal como el fruto de *Parmentiera aculeata* (Kunth) Seem, el cual es conocido en la Huasteca Potosina como “chote”. Los usos son el maderable, medicinal y comestible para humanos y como forraje para animales (16,17). En este sentido, es importante el uso de ingredientes que además de nutrir, promuevan la salud digestiva y se aprovechen los nutrientes para mejorar el crecimiento en los sistemas de producción pecuaria, incluyendo su bajo costo (4). Actualmente existe un interés en la búsqueda de nuevas fuentes de sustratos de bajo costo que funjan como sustratos para el crecimiento de probiótico. Por tal motivo, el objetivo del presente estudio fue utilizar el fruto de *P. aculeata* como sustrato para el crecimiento de bacterias probióticas en fermentación en estado sólido (FES), estableciendo condiciones óptimas de crecimiento.

2. Materiales y Métodos

Microorganismos, medios de cultivo y reactivos químicos

Las cepas probióticas (*Lactobacillus paracasei* subesp. *paracasei* ATCC 25302 y *L. plantarum* subesp. *plantarum* ATCC 14917) que se utilizaron para el desarrollo de

las FES fueron proporcionadas por el Departamento de Investigación en Alimentos de la Universidad Autónoma de Coahuila. El medio de cultivo Man Ragosa Sharpe (MRS) se adquirió en Merck (Darmstadt, Germany). Todos los reactivos químicos se adquirieron en Productos Químicos de Monterrey (Monterrey, Mex) y Jalmek Científica (San Nicolás de los Garza, México).

Recolección de frutos

La recolección de los frutos de *P. aculeata* (H. B. & K.) Seemann se realizó durante el otoño de 2018 en Rascón, S. L. P. (Latitud 21.97466818 Longitud 99.26012278,299 msnm). Se tomó como criterio para su selección la escala de color reportada por Angón-Galván (16) seleccionando aquellos frutos parcialmente-maduros (nivel 3) y maduros (nivel 4) con un intervalo de sólidos solubles entre 8.0-13.0 °Brix. Los frutos se lavaron y desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio 4% durante 10 minutos.

Análisis químico-proximal del fruto

La caracterización del fruto se realizó de acuerdo con las metodologías de la AOAC International (Association of Official Agricultural Chemists) (18,19). La determinación de humedad se realizó por el método 925.09 a 110 °C por 3 h. La determinación de cenizas el método 923.03 a 600 °C por 3 h. La determinación de proteína cruda se cuantificó por el método Kjeldahl (método 954.01). La determinación de grasas se realizó utilizando el sistema Soxhlet por el método 920.39 y, el porcentaje de carbohidratos se obtuvo mediante diferencias

de porcentajes. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

Evaluación del crecimiento de dos cepas de *Lactobacillus* en FES

a) Preparación del material vegetal e inóculo

Previo al desarrollo de las FES, el material vegetal se cortó en rodajas y se sometieron a un proceso de secado durante 24 h en un deshidratador NESCO Gardenmaster FD-1010 PC (Wisconsin, USA). En seguida los frutos secos se pulverizaron en una licuadora Oster 6854-13 (Boca Ratón, Florida). Posteriormente el material pulverizado se esterilizó a 121°C, 15 lb de presión durante 20 minutos. Mientras tanto, 100 µL de cada una de las cepas de *Lactobacillus* crio-conservadas en glicerol-leche descremada se activó en 10 mL de caldo MRS. Las cepas se incubaron a 37 °C por 24 h. Posteriormente, se prepararon los inóculos para las FES que consistieron en resembrar las cepas en caldo MRS a 37 °C un periodo estricto de 16 h con una concentración de 8.55×10^8 - 1.04×10^9 cel/mL.

b) Diseño experimental

Se realizó un diseño experimental con arreglo ortogonal L9 (3^3) propuesto por Taguchi (20) con la finalidad de encontrar las condiciones óptimas donde se expresa el mayor crecimiento (mayor concentración celular) durante las FES. Para lo cual se evaluaron tres factores con tres niveles: pH (4.0, 5.0 y 6.0), porcentaje de humedad (50, 60 y 70 %) y concentración de inóculo (5, 10 y 15 %) (Tabla 1).

Tabla 1. Diseño experimental usando un arreglo ortogonal L9 (3^3).

Tratamiento	pH	% Humedad	% inóculo	Ajuste de las variables en los reactores
1	1	1	1	5.0 gbs + 4.5 mL H ₂ O* + 0.5 mL de inóculo
2	1	2	2	4.0 gbs + 5.0 mL H ₂ O* + 1.0 mL de inóculo
3	1	3	3	3.0 gbs + 5.5 mL H ₂ O* + 1.5 mL de inóculo
4	2	1	2	5.0 gbs + 4.0 mL H ₂ O* + 1.0 mL de inóculo
5	2	2	3	4.0 gbs + 4.5 mL H ₂ O* + 1.5 mL de inóculo
6	2	3	1	3.0 gbs + 6.5 mL H ₂ O* + 0.5 mL de inóculo

7	3	1	3	5.0 gbs + 3.5 mL H ₂ O* + 1.5 mL de inóculo
8	3	2	1	4.0 gbs + 5.5 mL H ₂ O* + 0.5 mL de inóculo
9	3	3	2	3.0 gbs + 6.0 mL H ₂ O* + 1.0 mL de inóculo

Nota: Niveles 1, 2 y 3 corresponden a pH 4.0, 5.0 y 6.0; humedad del 50, 60 y 70 %, y concentración de inóculo inicial de 5, 10 y 15 % (v/v), respectivamente. * Para ajustar el valor de pH deseado, el agua destilada estéril se acidificó con HCl 0.1 M.

Fermentación en estado sólido

Se utilizaron tubos cónicos de 15 mL como reactores conteniendo 10 g de material húmedo, los cuales fueron acondicionados con el pH, porcentaje de humedad y concentración de inóculo como se estableció en el diseño experimental (Tabla 1). La incubación se realizó a 37 °C por 120 horas y cada tratamiento se realizó por triplicado. Una vez finalizado el tiempo de fermentación, se realizaron diluciones 1:10, para lo cual se tomó 1 g de bagazo fermentado y se homogenizó en 9 mL de agua estéril. Se realizaron las diluciones seriadas necesarias para realizar el conteo celular en cámara de Neubauer. El crecimiento de las cepas evaluadas se expresó en células por gramo de bagazo seco (Cel/gbs), considerando las concentraciones iniciales de cada tratamiento y los gramos de bagazo utilizados en los tubos cónicos.

Análisis estadístico y validación del experimento

El análisis de varianza (ANOVA) se realizó en el software Statistica 7 (Statsoft, Tulsa, OK, USA). La validación del experimento se realizó para aquella cepa que presentó el mayor crecimiento y con las mejores condiciones de pH, humedad y concentración del inóculo, tras el análisis estadístico y predichas por el modelo de Taguchi.

3. Resultados y Discusión

Los resultados del análisis químico-proximal del fruto (Tabla 2) muestran un contenido de humedad similar a lo que se ha reportado por otros autores (16). Mientras que, el valor de cenizas es de 0.92%, es ligeramente superior al reportado por Angón-Galván (16) con un

intervalo de 0.49-0.62%, pero inferior a lo reportado por Villar-Herrera (21). En cuanto al contenido de proteínas, los resultados obtenidos son 1.23-13 veces superiores a los reportados previamente, los cuales corresponden a valores de 3.46% y 0.33-0.40%, respectivamente (16,21). Por otra parte, el contenido de grasa del fruto analizado es superior a lo que reportan otros autores: 1.3 veces superior (16) y hasta 167-125 veces superior (21). Mientras tanto, el contenido de carbohidratos obtenido es 1.95-2.38 veces inferior a lo reportado anteriormente: 8.7-10.6 % (16). Las diferencias en el análisis químico-proximal pueden deberse a los factores abióticos de las zonas geográficas (Oaxaca y Chiapas) y temporada del año de recolección (primavera-verano), puesto que las condiciones climáticas influyen en la composición nutricional de las frutas, tales como intensidad de la luz, temperatura, lluvias, tipo de suelo donde se desarrolla la planta, por mencionar algunos (22).

Tabla 2. Resultados del análisis químico-proximal del fruto de *P. aculeata*.

Parámetro	Porcentaje (%)
Humedad	85.33 ± 0.82
Cenizas	0.92 ± 0.19
Proteínas	4.29 ± 0.00
Grasas	5.02 ± 1.08
Carbohidratos	4.44 ± 0.00
Total	100.00

Tras el desarrollo de las FES, se observó que las condiciones óptimas de crecimiento para ambas cepas fue el tratamiento 3: niveles 1, 3 y 3 que corresponden a pH 4.0, 70% de humedad y 15% de inóculo (Fig. 1). El valor máximo de crecimiento fue de $1.42 \times 10^9 \pm$

2.03×10^8 cel/gbs para la cepa de *L. plantarum* subesp. *plantarum* ATCC14917, la cual superó 2.34 veces el crecimiento de la cepa de *L. paracasei* subesp. *paracasei* ATCC25302 (Tabla 3). Mientras tanto, el menor crecimiento fue de $9.00 \times 10^7 \pm 2.00 \times 10^7$ Cel/gbs y $1.80 \times 10^8 \pm 1.00 \times 10^7$ cel/gbs para *L. paracasei* subesp. *paracasei* ATCC25302 y *L. plantarum* subesp. *plantarum* ATCC14917 durante el tratamiento 1 (pH 4.0, humedad 50% e inóculo 5%), respectivamente. Para el desarrollo bacteriano, el pH es un factor importante que se puede encontrar en el intervalo neutro (pH 6.5-7.0), o bien, tratándose de lactobacilos en

pH 4.0 (23). Este valor inicial fue el preferido por ambas cepas de *Lactobacillus*. Los microorganismos requieren de agua para su crecimiento. En el caso de las bacterias, los valores necesarios de humedad son superiores a 60%, ya que a porcentajes menores el crecimiento se inhibe (24). Lo anterior se comprobó al observar que las cepas de *Lactobacillus* prefirieron humedades de 70% y los menores crecimientos se observaron en una humedad del 50%. Finalmente, la concentración del inóculo inicial causa un mayor crecimiento y/o variable de respuesta que se esté evaluando cuando la concentración de inóculo es del 15% (25).

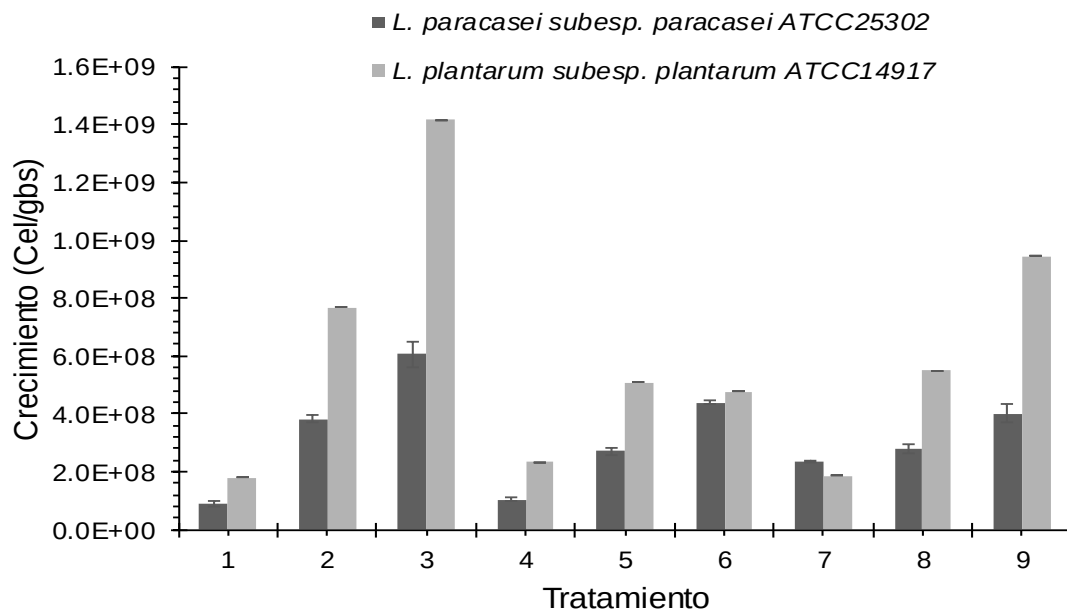


Figura 1. Resultados del diseño experimental del modelo de Taguchi para las FES usando el bagazo de *P. aculeata* como sustrato para el crecimiento de dos cepas probióticas.

Tabla 3. Resultados experimentales de las FES durante la aplicación del modelo de Taguchi y validación del método.

Cepas evaluadas	Cel/ gbs		
	Experimental	Esperado	Validado
<i>L. paracasei</i> subesp. <i>paracasei</i> ATCC25302	6.06×10^8	5.88×10^8	NR
<i>L. plantarum</i> subesp. <i>plantarum</i> ATCC 14917	1.42×10^9	1.26×10^9	4.90×10^9 * 5.06×10^9

NR: no realizado, *valor obtenido a las 144 h

De acuerdo con el ANOVA realizado se obtuvo que la relación señal/ruido de los factores por nivel para la cepa de *L. paracasei* subesp. *paracasei* ATCC25302 se mejoran cuando se utiliza un pH de 4.0, humedad de 70% y una concentración de inóculo de 15% (Fig. 2a). Mientras que, para la cepa de *L. plantarum* subesp. *plantarum* ATCC14917 se aprecia un comportamiento similar con las

mismas condiciones de pH y humedad; y para la concentración de inóculo con 10 o 15% de concentración (Fig. 2b). Para ambas cepas, el factor que mayor aportación tiene en los resultados obtenidos es la humedad con un valor de 63-79% y compartiendo un valor similar de aportación con la concentración de inóculo (8-12%) (Fig. 2b y 2c).

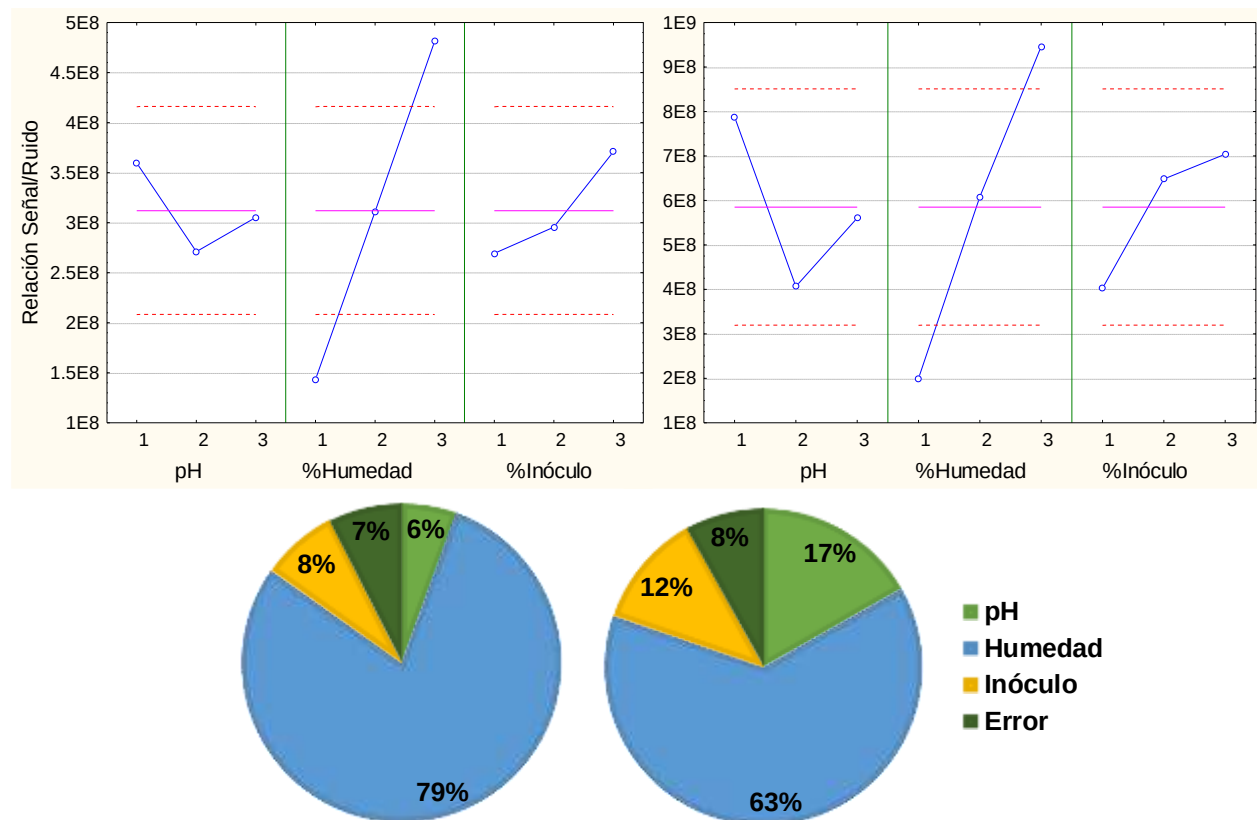


Figura 2. Resultados del análisis de Taguchi durante las FES usando el bagazo de *P. aculeata* como sustrato para el crecimiento de dos cepas probióticas. Relación señal/ruido de los factores por nivel y aportaciones de cada nivel en la variable de respuesta para las cepas de *L. paracasei* subesp. *paracasei* ATCC 25302 (izquierda) y *L. plantarum* subesp. *plantarum* ATCC14917 (derecha). Análisis estadístico para *L. paracasei* Mean=31198E4 Sigma=16446E4 MS Error=8082E12 df=2 y para *L. plantarum* Mean=58488E4 Sigma=40602E4 MS Error=5298E13 df=2

Tras la validación, se observó que se superó 3.8 veces el valor predicho por el modelo de Taguchi ensayo desarrollado en las condiciones óptimas de crecimiento. Estos resultados aportan información interesante para el área de nutrición animal, particularmente para el diseño de alimentos que mejoren el crecimiento en los sistemas de

producción pecuaria. Además, existen pocos reportes acerca del crecimiento de bacterias en medio sólido. Sin embargo, se ha ensayado el crecimiento de cepas probióticas, tales como *L. acidophilus*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, y dos cultivos mixtos denominados YOMIXTM 205 LYO y CHOOZITTM MY 800, en matrices sólidas

como el polen de abejas donde, *L. acidophilus* registró la mayor supervivencia con valores de 10^8 UFC/mL (26). Otros autores han investigado la viabilidad celular de *Lactobacillus plantarum* LPBM10 y *Lactobacillus casei* ATCC 393 utilizando como sustrato la pulpa de uchuva y glucosa 14% (p/p) que tras 15 días presentaron valores de 3.23×10^9 y 7.88×10^8 UFC/mL, respectivamente. Además, se han realizado barras a base de cereales como matriz sólida para la formulación con probióticos y prebióticos, específicamente *Weissella confusa* (19). En el área de ensilaje, se ha utilizado *Lactobacillus plantarum* para la fermentación, conservación y calidad de ensilaje de maíz y sorgo, por mencionar algunos (27,28). Además del uso de *L. paracasei* para el ensilaje de zacate elefante y palocote tropical (29).

4. Conclusiones

En este estudio del fruto de *P. aculeata* se evidenció su aplicación como única fuente de nutrientes para el crecimiento de *L. paracasei* subesp. *paracasei* ATCC25302 y *L. plantarum* subesp. *plantarum* ATCC14917. Este fruto puede ser una alternativa de sustrato para trabajos futuros en el área de la nutrición animal, particularmente en el ensilaje y por ende mejorar la nutrición y crecimiento en los sistemas de producción pecuaria.

5. Agradecimientos

Los autores agradecen a PRODEP por el financiamiento de este proyecto (ITCVAL-PTC-004) a través del programa de Nuevos Profesores de Tiempo Completo (NPTC).

6. Referencias bibliográficas

1. Rodríguez R, Ontivero Y, García Y, Gómez D, Sosa G. Use of the sweet potato tuber (*Ipomoea batatas* L.) and the *Lactobacillus pentosus* LB-31 strain as additives to mixed silages for ruminants. *Livest Res Rural Dev* [Internet]. 2020 [cited 2022 May 25];23(7):Artículo 117. Available from: <https://www.lrrd.cipav.org.co/lrrd32/7/rodri32117.html>
2. Flórez-Delgado DF, Rosales-Asensio E. Vista de Uso del ensilaje de pulpa de café en alimentación animal. *Mundo Fesc* [Internet]. 2018 [cited 2022 May 26];15(1):73–82. Available from: <https://www.fesc.edu.co/Revistas/OJS/index.php/mundofesc/article/view/254/385>
3. Molina A. Probiotics and their mechanism of action in animal feed. *Agron Mesoam*. 2019;30(2):601–11.
4. Núñez-Torres OP. Los costos de la alimentación en la producción pecuaria. *J Selva Andin Anim Sci*. 2017;4(2):93–4.
5. Sainz-Ramírez A, Botana A, Pereira-Crespo S, González-González L, Veiga M, Resch C, et al. Efecto de la fecha de corte y del uso de aditivos en la composición química y calidad fermentativa de ensilado de girasol. *Rev Mex Ciencias Pecu* [Internet]. 2020 [cited 2022 May 26];11(3):620–37. Available from: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242020000300620&lng=es&nrm=iso&tlng=es
6. Bernal Castro CA, Díaz-Moreno C, Gutiérrez-Cortés C. Probióticos y prebióticos en matrices de origen vegetal: avances en el desarrollo de bebidas de frutas. *Rev Chil Nutr* [Internet]. 2017 [cited 2018 Nov 29];44(4):383–92. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-

- 75182017000400383&lng=en&nrm=iso&tlng=en
7. Mariño G, Núñez V, Barreto P. Microbiota, probióticos, prebióticos y simbióticos. *Acta Médica Cuba* [Internet]. 2016 Oct 31 [cited 2018 Dec 5];17(1). Available from: <http://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=68527>
 8. Davani-Davari D, Negahdaripour M, Karimzadeh I, Seifan M, Mohkam M, Masoumi SJ, et al. Prebiotics: Definition, Types, Sources, Mechanisms, and Clinical Applications. *Foods*. 2019;8(3):92.
 9. Guarner F, Sanders M, Eliakim R, Fedorak R, Gangl A, Garisch J, et al. Probióticos y prebióticos. *World Gastroenterol Organ*. 2017;35.
 10. Nataraj BH, Ali SA, Behare P V., Yadav H. Postbiotics-parabiotics: The new horizons in microbial biotherapy and functional foods. *Microb Cell Fact* [Internet]. 2020;19:168. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01426-w>
 11. Flores L, Usca J, Peñafiel S, Tello L. Probióticos Como Aditivos Dietéticos Para Cerdos. Una Revisión/Probiotics as Dietetic Additives for Pigs. A Review. *KnE Eng* [Internet]. 2020 Jan 26 [cited 2022 Apr 26];2020:477–499–477–499. Available from: <http://3.65.204.3/index.php/KnE-Engineering/article/view/6267>
 12. Vera-Mejía RR, Vega-Cañizares E, Sánchez-Miranda L. Efecto de *Lactobacillus plantarum* como probiótico en cerdos al destete. *Rev Salud Anim* [Internet]. 2018 [cited 2022 Apr 26];40(3):2224–4700. Available from: <http://opn.to/a/kqa3R>
 13. Gutiérrez-Castro L, Güecha-Castillo A. Uso de probióticos en alimentación animal. *Rev Sist Prod uctivos Agroecol*. 2016;7(2):43–55.
 14. Lecarnaque Dioses EN. Efecto de tres porcentajes de inóculo de *Lactobacillus cases* y tres concentraciones de arroz sobre la acidez del ensilado de residuos de pescado. Universidad Nacional de Tumbes; 2019.
 15. Zimmermann J. Aplicación de diferentes matrices transportadoras de probióticos destinadas a cerdos en producción primaria. Universidad Nacional del Litoral; 2020.
 16. Angón-Galván P. Caracterización parcial del fruto *Parmentiera edulis*. Universidad Tecnológica de la Mixteca; 2006.
 17. García-Castillo CG, Martínez-Tinajero JJ, Montañez-Valdez OD, Sánchez-Orozco L, Posada-Cruz S, Izaguirre-Flores F, et al. Degradación ruminal de la materia seca del fruto cuajilote (*Parmentiera edulis*). *Zootec Trop*. 2008;26(1):1–8.
 18. AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th ed. Horwitz W, editor. AOAC International. Maryland, USA: AOAC International; 2005.
 19. AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International of AOAC International. 20 th. Latimer GW, editor. AOAC International. Maryland, USA: AOAC International; 2016. 3172 p.
 20. Aguilar-Zarate P, Cruz-Hernandez MA, Montañez JC, Belmares-Cerda RE, Aguilar CN. Enhancement of tannase production by *Lactobacillus plantarum* CIR1: Validation in gas-lift

- bioreactor. *Bioprocess Biosyst Eng.* 2014;37(11):2305–16.
21. Villar-Herrera S. Evaluación nutrimental del fruto *Parmentiera edulis* para su posible utilización en la industria alimentaria. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; 2011.
 22. Kader AA, Pelayo-Zaldivar C. Tecnología postcosecha de cultivos hortofrutícola [Internet]. UCANR Publications; 2011 [cited 2022 Aug 18]. 584 p. Available from: <https://books.google.com.mx/books?id=x62K8WYwAt4C&pg=PA321&dq=factores+que+influyen+en+la+calidad+de+las+frutas&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjHs-X2iNL5AhVJnGoFHbOhC20Q6AF6BAGLEAI#v=onepage&q=factores+que+influyen+en+la+calidad+de+las+frutas&f=false>
 23. Negroni M. Microbiología Estomatológica, Fundamentos y guía práctica [Internet]. Segunda. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009 [cited 2022 Aug 19]. 656 p. Available from: https://books.google.com.mx/books?id=Gxmui-vjZBgC&pg=PA45&dq=factores+que+afectan+el+crecimiento+bacteriano&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjB_uzTjtL5AhW3hIkEHU14CNwQ6AF6BAGHEAI#v=onepage&q=humedad&f=false
 24. Díaz-Fernández JM. Ingeniería de Bioprocesos [Internet]. Tercera ed. España: Ediciones Paraninfo, S. A.; [cited 2022 Aug 19]. Available from: https://books.google.com.mx/books?id=eHA-EAAAQBAJ&pg=PA340&dq=actividad+de+agua+para+crecimiento+microbiano&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjy2_eOh9P5AhWGIUQIHWTwCzkQ6AF6BAGHEAI#v=onepage&q=actividad+de+agua+para+crecimiento+microbiano&f=false
 25. Lora Cahuas de Robles CE del R. Efecto de diferentes concentraciones de inóculo de *Pseudomonas aeruginosa* en la degradación de aceite lubricante en laboratorio [Internet]. Biblioteca Digital-Dirección de Sistemas de Informática y Comunicación. Universidad Nacional de Trujillo; 2021. Available from: [http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/14465/Aguilar Ramos Cesar Hilton.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/14465/Aguilar+Ramos+Cesar+Hilton.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
 26. Fuenmayor CA, Quicazán MC, Figueroa J. Desarrollo de un suplemento mnutricional mediante la fermentación en fase sólida de polen de abejas empleando bacterias ácido lácticas rpobióticas. *Aliment Hoy* [Internet]. 2010 [cited 2022 May 30];20(23):18–40. Available from: https://acta.org.co/acta_sites/alimento+shoy/index.php/hoy/article/view/24/24
 27. Agropecuarias C, Ramírez-díaz R, Pinto-ruiz R, Medina-jonapá F, Guevara-hernández F. Efecto de inoculantes y aditivos sobre fracciones de fermentación ruminal y degradación in vitro en ensilaje de sorgo (*Sorghum sp*) Effect of inoculants and additives on fractions of ruminal fermenta- tion and in vitro degradation in sorghum silage (*Sor. Cienc UAT.* 2020;15(1):172–9.
 28. Vera Mendoza AJ, Zambrano Zambrano BA. Inoculación de *Lactobacillus plantarum* para la fermentación y conservación del

ensilaje de maíz (Zea mays)SILAJE
DE MAÍZ (Zea mays). Escuela
Superior Politécnica Agropecuaria
Manuel Félix López; 2019.

29. Holguín VA, Cuchillo-Hilario M, Mazabel J, Quintero S, Mora-Delgado J. sobre la fermentación ruminal in vitro y su emisión de metano en el sistema RUSITEC. Rev Mex Ciencias Pecu. 2020;11(1):19–37.



Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica

Página principal: www.riit.com.mx

Comparative study of polyphenol extraction from grapefruit (*Citrus paradisi*) peel using solid fermentation

Estudio comparativo de extracción de polifenoles de cáscara de toronja (*Citrus paradisi*) usando fermentación sólida

de la Rosa-Hernández, M.^a, Aguilar, C.N.^b, Reyes-Munguía, A.^a, Muñoz-Márquez, D.B.^{a*}, Wong-Paz, J.E.^{a*}

^a Laboratorio de Investigación en Alimentos. Facultad de Estudios Profesionales Zona Huasteca. Universidad Autónoma de San Luis Potosí; C.P. 79060, Ciudad Valles, San Luis Potosí.

^b Grupo de Bioprocesos y Bioproductos. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Coahuila; C.P. 25280, Saltillo, Coahuila.

martina.derosa@uaslp.mx; crisobal.aguilar@uadec.edu.mx; abigail.reyes@uaslp.mx; diana.marquez@uaslp.mx*; jorge.wong@uaslp.mx*

Technological innovation: Alternate release of polyphenols from grapefruit peel.

Industrial application area: Pharmaceutical and food industry.

Received: June 01th, 2022

Accepted: January 11th, 2023

Resumen

Tres cepas de hongos fueron utilizadas con el objetivo de liberar los polifenoles de la cáscara de toronja usando la fermentación en estado sólido (SSF). El bioproceso se realizó en biorreactores por triplicado a 30 ± 2 °C durante 5 días en condiciones estáticas. La cuantificación de los polifenoles totales se hizo con las técnicas de Folin-Ciocalteu y el ensayo n-Butanol/HCl/Fe³⁺. La caracterización de los extractos fermentados fue por HPLC-MS. En los resultados se obtuvieron mejores rendimientos de polifenoles liberados a las 96 h usando la fermentación con *A. niger*, alrededor de 518 ± 22 mg/g de muestra. Un menor rendimiento fue obtenido con *A. oryzae*, 196 ± 22 mg/g, mientras que *Penicillium digitatum* no mostró adaptación al sustrato en el tiempo de la evaluación. Además, se logró la identificación de ocho compuestos flavonoides, siendo la naringina y hesperidina las moléculas mayoritarias en los extractos fermentados. Nuestro estudio comparativo evidenció que la fermentación en estado sólido con *A. niger* permite la obtención de un mayor contenido fenólico que el control sin fermentar, en contraste, la fermentación con *A.*

oryzae permitió menor liberación durante todo el proceso de extracción. Los resultados demuestran que *A. niger* es mejor cepa fermentativa para la recuperación de metabolitos importantes aplicables el área farmacéutica y alimentaria usando residuos de toronja. No se descarta el uso de *A. Oryzae* en fermentaciones sólidas, pero se recomienda estudiar su crecimiento y adaptación con otros sustratos agroindustriales.

Palabras clave: *A. niger*, hongos-filamentosos, HPLC-MS, polifenoles, residuos-toronja.

Abstract

Three fungal strains were used to release polyphenols from grapefruit peel using Solid-State Fermentation (SSF). The bioprocess was carried out in bioreactors in triplicate at 30 ± 2 °C for 5 days under static conditions. Quantification of total polyphenols was done with the Folin-Ciocalteu and *n*-Butanol/HCl/Fe³⁺ assays. The characterization of fermented extracts was by HPLC-MS. In the results, better yields of polyphenols released at 96 h were obtained using the fermentation with *A. niger*, around 518 ± 22 mg/g of sample. A lower yield was obtained with *A. oryzae*, 196 ± 22 mg/g, while *Penicillium digitatum* did not show adaptation to the substrate at the time of evaluation. In addition, eight flavonoids compounds were identified, being naringin and hesperidin the major molecules in fermented extracts. Our comparative study, evidenced that Solid-State Fermentation using *A. niger* allows higher phenolic content to be obtained than the unfermented control, in contrast, fermentation with *A. oryzae* allowed less release during the whole extraction process. The results show that *A. niger* is a better fermentative strain for the recovery of important metabolites applicable in pharmaceutical and food industry using grapefruit residues. The use of *A. Oryzae* in solid fermentations is not discarded, but it is recommended to study its growth and adaptation using other agro-industrial substrates.

Keywords: *A. niger*, fungi-filamentous, HPLC-MS, polyphenols, residues-grapefruit.

1. Introduction

Solid-State Fermentation (SSF) to release of bioactive compounds is the use of fungal strains to release valuable biomolecules from plants, fruits and agroindustry waste almost without water. Recently, the studies using SSF are increasing due to some advantages showed in the method, such as simple, cheap, environmentally friendly, improved yields of extracted bioactive compounds and sometimes a biotransformation of bioactive compounds is observed with increased biological properties [1, 2]. SSF using fungal microorganisms is an alternative that is

replacing the expensive chemical methods for the extraction of bioactive compounds from natural products because it allows the recovery of secondary metabolites with several biological properties without the use of toxic solvents [3, 4, 5]. In this regard, SSF has been successfully used on several agro-industrial wastes including fruit peels (orange, lemon, banana, apple, pomegranate) [6, 7], bagasse, among other materials [8, 9, 10].

The grapefruit peel is a waste product considered as a potential source of bioactive

compounds such as terpenes as carotenoids and limonoids, vitamins A, E, C and polyphenolic compounds such as coumarins, flavonoids and phenolic acids. Polyphenolic compounds are a group of bioactive compounds widely distributed in plants, vegetables, and fruits with beneficial effects on human health [11, 12]. Recently, polyphenolic compounds in grapefruit are considered to play a crucial role in human health because they help in the prevention of chronic diseases, as cancer, diabetes, obesity, and cardiovascular diseases [13, 14]. In addition, citrus compounds are considered as powerful antioxidant and antimicrobial molecules [15, 16, 17], with several applications in the food and pharmaceuticals industries. However, at the present the grapefruit peel has not been intensively exploited for the recovery of these bioactive compounds and even less under SSF [18, 19]. Therefore, the aim of this study was to evaluate the release of polyphenolic compounds from grapefruit (*Citrus paradisi*) peels obtained by SSF using *Aspergillus niger*, *Penicillium digitatum* and *Aspergillus oryzae*.

2. Materials and methods

2.1. Grapefruit peel collection and treatment

A batch of pink grapefruit was obtained from a local market in Ciudad Valles, S. L. P., Mexico. The fruits were washed and peeled in the Laboratory (FEPZH-UASLP). The selected grapefruit peel was dehydrated at 70 °C during 72h in a convection stove. Then, the dried grapefruit peel was pulverized (Kitchenaid® bean mill P/beater), sieved and stored in hermetic bags.

2.2. Cell culture of fungal strains

Aspergillus niger and *Penicillium digitatum* were obtained from the fungal collection of the Food Research Laboratory (FEPZH-UASLP), and *Aspergillus oryzae* from the

collection of the Department of Research (DIA-UAdeC). All fungal strains were cryopreserved at -20 °C in media composed of glycerol and skimmed milk. Then, fungal spores were reactivated in PDA agar at 30 °C for 5 days. The spore suspension was prepared by washing with 0.01% Tween-80 and counted on a Neubauer® adjusting the inoculum to 2×10^7 spores/g dry sample.

2.3. Fungal Strains Selection: Radial growth kinetics

The grapefruit peels (humidity 70%) were distributed in Petri dishes by triplicates and inoculated with fungal spore suspension, then incubated at 30 ± 2 °C. Radial growth was measured every 24 h for 7 days and expressed in mm/h. The higher radial growth was selected for the kinetics of polyphenols release.

2.3.1. Polyphenol extraction by Solid State Fermentation (SSF)

Grapefruit peel (3 g) was impregnated with sterile water and spore solution to reach 70% of moisture content and 2×10^7 spores/g db. The inoculated material was deposited in Petri dishes as bioreactor model in triplicate. The SSF kinetics were controlled at 30 ± 2 °C during 4 days under static conditions. Substrate without inoculum under the same conditions of humidity and fermentation was used as a control. Polyphenols were recovered every 24 hours, using 20 ml of ethanol (70%) at 220 rpm for 10 min in a Shaker to extract the compounds from the vegetal fermented. Extracts were filtered and stored at -20 °C.

2.4. Analytical determinations

2.5.1. Hydrolysable tannins (HT)

HT were quantified by triplicate using the Folin-Ciocalteu method [20]. In this 400 µl of extract and 400 µl of Folin-Ciocalteu reagent were pipetted in a test tube and reacted during 5 min in the dark. After, 400 µl of Na_2CO_3

(0.01 M) and 2.5 ml of distilled water were added. The solution was read at 790 nm in spectrophotometer. The concentration was calculated using a standard curve of gallic acid in ethanol (70%). Concentrations were expressed in mg gallic acid equivalents by gr of dry basis (GAE mg/g of DB).

2.5.2. Condensed tannins (CT)

In this quantification, the n-Butanol/HCl/Fe³⁺ method was used [21]. Briefly, 250 µl of extract, 1.5 ml HCl-Butanol (95%) and 50 µl of ferric reagent (Ferric ammonium sulfate) were collocated in a test tube. These were exposed in a boiling water bath during 40 min, then cooled to room temperature and the absorbance was read at 550 nm. The concentration was calculated with Procyanidin C1 (Sigma-Aldrich) standard curve according to the n-Butanol/HCl/Fe³⁺ reaction method. Concentrations were expressed in mg procyanidin C1 equivalents by gr dry basis (C1PE mg/g of DB).

2.5.3. HPLC-MS Characterization

HPLC-MS analysis was performed using a Varian HPLC system including an autosampler (Varian ProStar 410, USA), a ternary pump (Varian ProStar 230I, USA) and a PDA detector (Varian ProStar 330, USA) coupled to a mass spectrometer (MS). Each extract was filtered with a syringe using acro-disperse filters. Samples (5 µL) were injected onto a Denali C18 column (150 mm × 2.1 mm, 3 µm, Grace, USA). The oven temperature was maintained at 30 °C. The eluents were formic acid (0.2%, v/v; solvent A) and acetonitrile (solvent B). The following gradient was applied: initial, 3% B; 0–5 min, 9% linear B; 5–15 min, 16% linear B; 15–45 min, 50% linear B. The column was then washed and reconditioned. The flow rate was

maintained at 0.2 mL/min and the elution was monitored at 245, 280, 320 and 550 nm. The whole effluent (0.2 mL/min) was injected into the mass spectrometer source, without splitting. All MS experiments were carried out in the negative mode [M-H]⁻¹. Nitrogen was used as the nebulizing gas and helium as the damping gas. The ion source parameters were: spray voltage 5.0 kV and, capillary voltage and temperature were 90.0 V and 350 °C, respectively. Data were collected and processed using MS Workstation software (V 6.9). The samples were firstly analyzed in full scan mode acquired in the *m/z* 50–2000 range. MS/MS analyses were performed on a series of selected precursor ions.

3. Discussion of the results

3.1. Fungal strain selection for the release of bioactive compounds

Figure 1 shows the kinetic of the radial growth by the three fungal strains on the solid substrate (grapefruit). Here, *A. oryzae* and *A. niger* showed the highest invasiveness compared to *P. digitatum*, so it was discarded due to having a lower radial growth. Based on this, *A. oryzae* and *A. niger* were selected for the SSF process. The growth of microorganism is the result of physiological responses of the fungi in function of the grapefruit peels (substrate) as an environment. *Aspergillus* genus is considered as resistant strain to adverse growth conditions due to its capacity to invade several types of substrates [22] including fruit residues. This last one is a disadvantage against *Penicillium digitatum*, considered a slow growing strain [23], despite to be a citrus-deteriorating fungus. Also, compounds present in the grapefruit are antifungal agents produced as natural defense mechanism of citrus fruit against *Penicillium* genus [24].

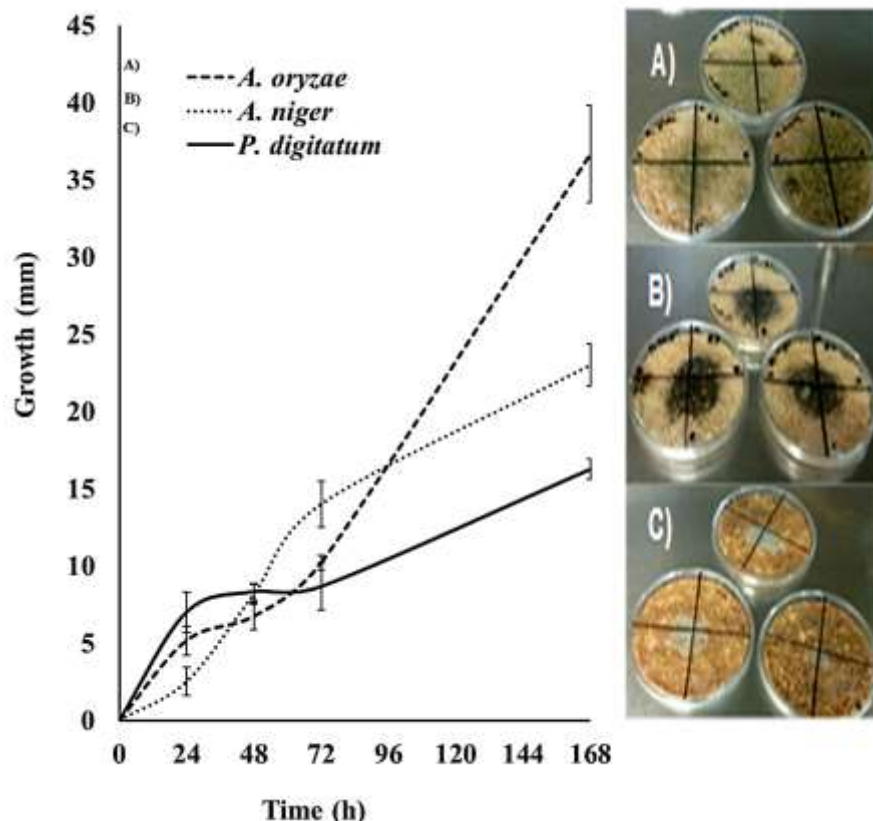


Figure. 1 Radial growth kinetics of all fungi studied on solid substrate (grapefruit).

In the release of compounds of grapefruit peels, *A. niger* presented greater ability to release polyphenolic compounds from grapefruit using the SSF (Figure 2). In contrast with the control without inoculum, an increment of phenolic content on grapefruit peel using *A. niger* was observed after 48h of processing. During all the fermentation until last 96 h, higher yields were obtained with *A. niger* than *A. oryzae*, 434.69 ± 22 mg GAE /g DB of hydrolysable tannins (Figure 2a) and 84.161 ± 6.11 mg PC1E/g DB of condensed tannins quantified

(Figure 2b). These results were better than those obtained by Šelo *et al.* (2022), using a substrate richer in antioxidant compounds, but could be improved by regulating experimental conditions as Larios *et al.* (2019).

All compounds were handled as Total Polyphenols (TC) from of the summary of CT and HT content obtained with both microorganisms during fermentative process, the values are shown in the table 1.

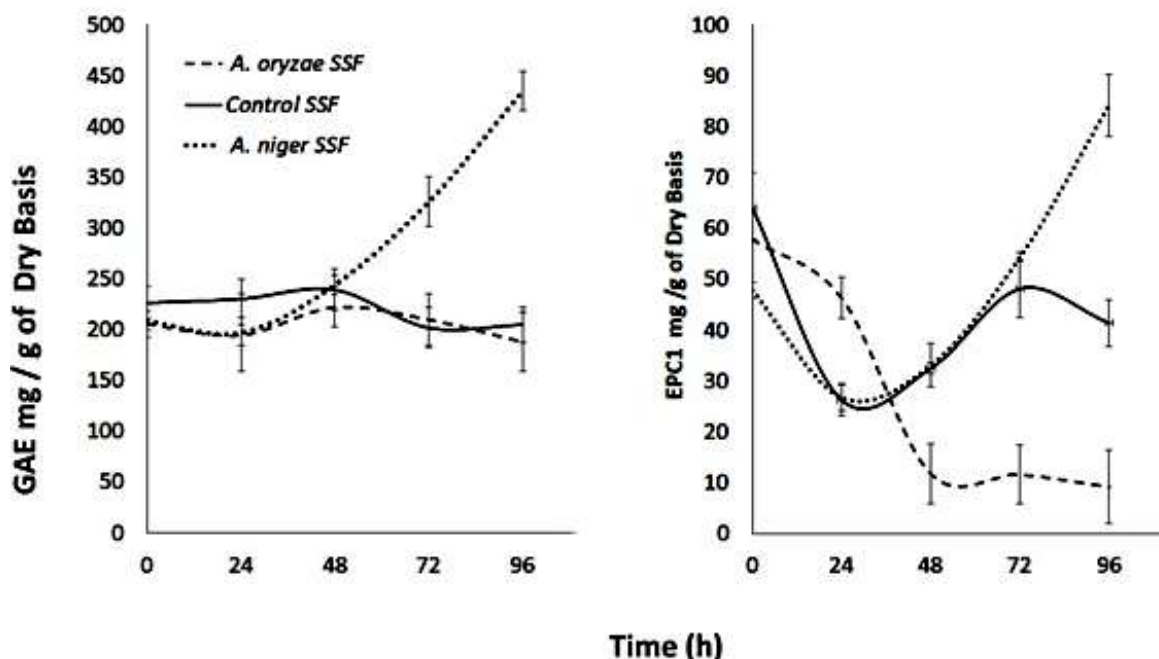


Figure. 2 Kinetics of Hydrolysable Tannins (left) and Condensed Tannins (right) extracted from grapefruit peels by SSF.

With these results obtained, it is confirmed that *A. niger* possesses a great metabolic activity [26, 27] to produce enzymes as cellulases [28, 29], pectinases [9] and hemicellulases [30, 31, 32], biological tools capable to degrading the polysaccharides of grapefruit peel allowing a better release of compounds from the substrate. Similar studies report the release of antimicrobial metabolites using *A. niger* metabolism from of grapefruit residue degradation [19, 33, 34]. Likewise, the activity of *A. niger* metabolism during the polyphenols release kinetics starts by consuming simple elements (monosaccharides) until their adaption, requiring greater enzymatic activity to consume complex polysaccharides such as protopectin, pectin and cellulose contained in epicarp and mesocarp of peels [35, 36, 37]. This happens with the genus *Aspergillus*, which has been regularly used to obtain enzymes, such as the work carried out by Zehra, Syed & Sohail (2020) using banana peels as substrate by FES, with the aim of obtaining pectinases from the degradation of

cell wall degradation of waste material with *Aspergillus fumigatus*. And although enzyme activity was not measured, the metabolic behavior of *A. niger* by FES has already been measured using grapefruit residues, so the activity of the microorganism could be like that of *A. niger* entering the adaptation and dormancy phase reported by Larios *et al.* (2016).

The activity of *A. niger* metabolism during the polyphenols release kinetics start by the consumption of simple elements (monosaccharides) until their adaption, requiring a greater enzymatic activity to consume the complex polysaccharides contained in epicarp and mesocarp of peels [19].

Regarding the low and high polyphenols concentrations obtained with *A. oryzae* and *A. niger* respectively could be related with tannase enzyme produced by *Aspergillus* genus [38, 39]. Tannase enzyme is used to obtain secondary metabolites (gallic acid)

[40, 41], so, its action represents an estimation of polyphenols release during the SSF. Consequently, polyphenols values are

the result of microorganism adaptation submitted to the SSF process and the effect on its enzymatic activities.

Table 1. Recovery of Total Polyphenols by SSF from of grapefruit (*Citrus paradisi*) peels at 96 h of process.

Analytical compounds	Fungal Extraction Assistant		
	Control SSF	<i>A. oryzae</i>	<i>A. niger</i>
HT (GAE mg/g of DB)	205±17 ^a	188±28 ^a	435±19 ^b
CT (C1PE mg/g of DB)	41±4 ^a	9±3 ^a	84±6 ^b
TP (mg/g of DB)	246±15 ^a	197±32 ^a	518±22 ^b

Abbreviations: HT: Hydrolysable tannins; CT: Condensed tannins; TP: Total polyphenols; GAE: Equivalents Gallic Acid; C1PE: Equivalents Procyanidin C1; DB: Dry Basis.

3.2. Phenolic profile by HPLC-MS

The phenolic profile obtained by HPLC-MS at 96 h by SSF is shown in the chromatograms of the samples analyzed (Fig. 3). 5 glycosidic flavonones were identified (peaks 1, 2, 3, 4 and 8) and 3 aglyconic flavonones (polymethoxylated) (peaks 5, 6 and 7). The chromatographic profile indicates that *A. niger* allowed the release of a better diversity of polyphenols, peaks 1 at 8 (Figure 3b) than *A. Oryzae*, peaks 1, 2, 3, 4 and 7 (Figure 3a) using the solid-state fermentation. A similar polyphenol profile was obtained by Sepúlveda *et al.*, (2016) where ellagic acid molecules are released using *A. niger* by SSF using pomegranate peels.

In our results, both profiles evidence the metabolism of genus *Aspergillus* to released different molecules from of grapefruit peels respect to the unfermented control. However, the chromatograms showed that the control had a major abundance of detected molecules (1600 mUA) (Figure 3c), while in the fermented treatments it decreases (1200-600 mUA), this probably due to phenolic components degradation by the enzyme tannase [39], although new compounds are apparently generated.

It is important to mention that variability of bioconversion yields between both strains depends of physiological growth conditions, fermentation parameters (temperature, pH,

heat transfer) and the matrix used [43, 44]. In *A. oryzae* case, these factors directly affect enzyme production activity. However, this microorganism has allowed the phenolic content in substrates such as wheat and other foodstuffs for human consumption to be increased [2, 45, 46].

In addition, naringin (naringenine-7-rhamnosidoglucoside) (peak 3) a predominant flavonoid in grapefruit peels [47], was the most abundant molecule present in unfermented control. In *A. niger* and *A. oryzae* extracts, hesperidin (hesperitin-7-rutinoside) (peak 4) and naringin (peak 3) were the most abundant molecules; this, indicates the fungal bioconversion diversity of the studied organisms to obtain bioactive molecules of interest from of same substrate. Some compounds detected in this study match to those reported in the literature [48]; however, SSF effect on the phenolic variety recovered from grapefruit peels fermented with two known organisms was considered better than without this extraction method.

According to chromatographic profiles analyzed, and the yields obtained, it can be said that *A. niger* has a greater enzymatic metabolism than *A. oryzae*, hence this microorganism is ideal to SSF using citrus residues. This may be one reason why *A. niger* has been preferred within the genus *Aspergillus* for bioactive molecules production by SSF with others agro-industrial

substrates [42, 49]. The profile showed that SSF is an effective and innovative technique to increase phenolic compounds from grapefruit peel, probably even better than traditional methods. These results are like those of Francis, Vodnar & Socaciu (2016)

who reported an increase in phenols of more than 30% for SSF with *Rhizopus oligosporus* and more than 21% for SSF with *A. niger* using plum by-products. In addition, these authors confirmed that the fermented extracts had a higher free radical scavenging activity.

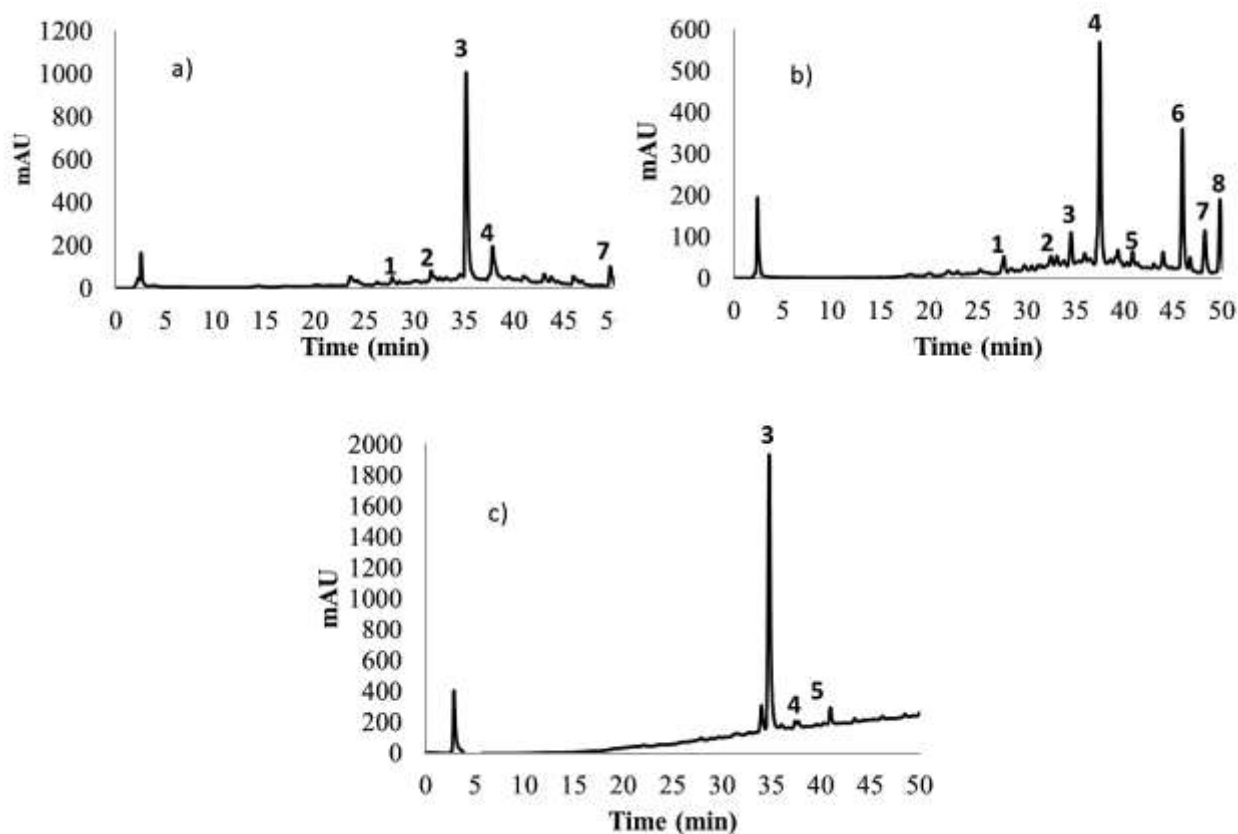


Figure 3. HPLC-MS Chromatograms obtained from the fermented grapefruit peel extract at 96 h of process: A) *A. oryzae*; B) *A. niger*; C) Control. Compounds identified: (1) Eriocitrin, (2) Isonaringine, (3) Naringin, (4) Hesperidin, (5) Naringenin, (6) Tangeretin, (7) Nobiletine, (8) Poncirin.

4. Conclusion

Obtaining bioactive biomolecules from grapefruit peels by SSF was successful applied. This work showed to *A. niger* has greater metabolism to degrade citrus wastes and release flavonoids compounds than *A. oryzae*, so it should not be ruled out for SSF. The molecules detected such as naringin, hesperidin and the others extracted by SSF are biological and functional ingredients that can be used as natural additives,

antimicrobials, and antioxidants in the development of pharmaceutical and food products. However, it is necessary to compare the biological proprieties of fermented products and to optimize the extraction process with fungal strain selected.

Acknowledgments

This work was funded by TecNM by project 6693.18-P Evaluation of antioxidant potential from fermented extracts from grapefruit peel

(*Citrus paradisi* L.). Also was funded by Facultad de Estudios Profesionales Zona Huasteca de la UASLP.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

5. References

1. Aguilar, C. N., Aguilera-Carbo, A., Robledo, A., Ventura, J., Belmares, R., Martínez, D., Rodríguez-Herrera, R., & Contreras, J. (2008). Production of antioxidants nutraceuticals by solid-state cultures of pomegranate (*Punica granatum*) peel and creosote bush (*Larrea tridentata*) leaves. *Food Technol Biotechnol*, 46:218-222.
2. Duhan, J. S., Mehta, K., Sadh, P. K., Saharan, P., & Surekha, C. (2016). Bio-enrichment of phenolics and free radicals scavenging activity of wheat (WH-711) fractions by solid state fermentation with *Aspergillus oryzae*. *African Journal of Biochemistry Research*, 1(2): 2-19. <https://doi.org/10.5897/AJBR2015.0854>
3. Koyani, R. D. & Rajput, K. S. (2015). "Solid State Fermentation: Comprehensive Tool for Utilization of Lignocellulosic through Biotechnology. *Journal of Bioprocessing and Biotechniques*, 5(10).doi:10.4172/2155-9821.1000258.
4. Buenrostro-Figueroa, J. J., Velázquez, M., Flores-Ortega O., Ascacio-Valdés, J. A., Huerta-Ochoa, S., Aguilar, C. N., & Prado-Barragán, L. A. (2017). "Solid state fermentation of fig (*Ficus carica* L.) by-products using fungi to obtain phenolic compounds with antioxidant activity and qualitative evaluation of phenolics obtained ". *Process Biochemistry*, 62, 16-23.
5. Meena, L., Sengar, A.S., Neog, R. *et al.* (2021). Pineapple processing waste (PPW): bioactive compounds, their extraction, and utilisation: a review. *J Food Sci Technol*. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05271-6>
6. Sepúlveda, L., de la Cruz, R., Buenrostro, J. J., Ascacio-Valdés, J. A., Aguilera-Carbó, A. F., Pradoc, A., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. (2016). "Efecto de las diferentes fuentes de polifenoles sobre la eficiencia de liberación de ácido elágico por *Aspergillus niger* ". *Revista Argentina de microbiología* 48(1):71-77.
7. El-Sayed, E., Ahmed, A. and Al-Hagar, O. (2020), Agro-industrial wastes for production of paclitaxel by irradiated *Aspergillus fumigatus* under solid-state fermentation. *J Appl Microbiol*, 128: 1427-1439. <https://doi.org/10.1111/jam.14574>
8. Sindhu, R., Pandey, A., & Binod, P. (2015). Solid-state "Fermentation to produce Poly (hydroxyalkanoates). *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 29(2): 173-181.
9. Ahmed, I., Zia-Anjum, M., Azhar-Hussain, M., Akram, Z., Naveed, M. & Nowrouz, I. (2015). A Bioprocessing of citrus waste peel for induced pectinase production by *Aspergillus niger*; its purification and characterization. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 9(2). <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2015.11.003>.

10. de la Rosa, O., Flores-Gallegos A. C., Muñiz-Marquez, D., Nobre, C., Contreras-Esquivel, J. C., Cristobal, N. A. (2019). Fructooligosaccharides production from agro-wastes as alternative low-cost source. *Trends in Food Science & Technology*, 91, 139-146, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.06.013>.
11. Zhang, B., Cai, J., Duan, C., Reeves, J. M., & He, F. (2015). Review of Polyphenolics in Oak Woods. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(4). doi:10.3390/ijms16046978.
12. Arfaoui, L. (2021). Dietary Plant Polyphenols: Effects of Food Processing on Their Content and Bioavailability. *Molecules*, 26(10), 2959. <https://doi.org/10.3390/molecules26102959>
13. Agudelo, C., Barros, L., Santos-Buelga, C., Martínez-Navarrete, N., & Ferreira, I. C. (2017). Phytochemical content and antioxidant activity of grapefruit (*Star Ruby*): A comparison between fresh freeze-dried fruits and different powder formulations. *LWT-Food Science and Technology*, 80, 106-112.
14. Ahmed, W., Azmat, R., Mehmood, A. et al. (2021). Comparison of storability and seasonal changes on new flavonoids, polyphenolic acids and terpenes compounds of *Citrus paradisi* (grapefruit) cv. shamber through advance methods. *Food Measure*, 15, 2915–2921. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-00815-y>
15. Zou, Z., Xi, W., Hu, Y., Nie, C., & Zhou, Z. (2015). Antioxidant activity of Citrus fruits. *Food Chemistry*. 196; pp.885–896.
16. Lin, X., Cao, S., Sun, J., Lu, D., Zhong, B., & Chun, J. (2021). The Chemical Compositions, and Antibacterial and Antioxidant Activities of Four Types of Citrus Essential Oils. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(11), 3412. <https://doi.org/10.3390/molecules26113412>
17. Saini, R. K., Ranjit, A., Sharma, K., Prasad, P., Shang, X., Gowda, K., & Keum, Y. S. (2022). Bioactive Compounds of Citrus Fruits: A Review of Composition and Health Benefits of Carotenoids, Flavonoids, Limonoids, and Terpenes. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 11(2), 239. <https://doi.org/10.3390/antiox11020239>
18. Londoño, J., Sierra, J., Álvarez, R., Restrepo, A. M., & Passaro, C. (2012). Aprovechamiento de los subproductos cítricos en Cítricos: cultivo, poscosecha e industrialización. *Artes y Letras*.
19. Larios-Cruz, R., Buenrostro-Figueroa, J., Prado-Barragán, A. et al. (2019). Valorization of Grapefruit By-Products as Solid Support for Solid-State Fermentation to Produce Antioxidant Bioactive Extracts. *Waste Biomass Valor* 10, 763–769. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0156-y>.
20. FAO/IAEA. (2000). Quantification of Tannins in Tree Foliage, A laboratory manual for the FAO/IAEA, Working Document, IAEA, Vienna, Austria Sec. 3.05-4.09.

21. Porter, L. J., Hrstich, L. N., & Chan, B. G. (1986). The conversion of procyanidins to cyanidin and delphinidin. *Phytochem*, 25(1): 223-230.
22. Paulussen, C., Hallsworth, J. E., Álvarez-Pérez, S., Nierman, W. C., Hamill, P. G., Blain, D., Rediers, H., & Lievens, B. (2017). Ecology of aspergillosis: insights into the pathogenic potency of *Aspergillus fumigatus* and some other *Aspergillus* species. *Microbial biotechnology*, 10(2), 296–322. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12367>
23. Li, Y., Xia, M., He, P., Yang, Q., Wu, Y., He, P., Ahmed, A., et al. (2022). Developing *Penicillium digitatum* Management Strategies on Post-Harvest Citrus Fruits with Metabolic Components and Colonization of *Bacillus subtilis* L1-21. *Journal of Fungi*, 8(1), 80. MDPI AG. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.3390/jof8010080>
24. Chen, J., Shen, Y., Chen, C., & Wan, C. (2019). Inhibition of Key Citrus Postharvest Fungal Strains by Plant Extracts In Vitro and In Vivo: A Review. *Plants*, 8(2), 26. MDPI AG. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.3390/plants8020026>
25. Šelo, G., Planinić, M., Tišma, M., Grgić, J., Perković, G., Koceva Komlenić, D., & Bucić-Kojić, A. (2022). A Comparative Study of the Influence of Various Fungal-Based Pretreatments of Grape Pomace on Phenolic Compounds Recovery. *Foods*, 11(11), 1665. MDPI AG. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.3390/foods11111665>
26. Martins, S., Mussatto, S. I., Martínez-Avila, G., Montañez-Saenz J., Aguilar, C. N., & Teixeira, J. A. (2011). Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. A review. *Biotechnology Advances*, 29, 365-373.
27. Ooi C. K., Rasit N., Rafizah W., Abdullah W. (2021). Optimization of Protease from *Aspergillus Niger* under Solid-State Fermentation Utilizing Shrimp Shell Substrate. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11 (6), 14809 – 14824. <https://doi.org/10.33263/BRIAC116.1480914824>
28. Persad, A. & Bisaria, S. V. (2014). Bioprocessing of Renewable Resources to Commodity Bioproducts. First Edition. Bisaria S. V. and Kondo A. Editors; *John Wiley & Sons*.
29. Dias, L., dos Santos, B., Albuquerque, C., Baeta, B., Pasquini, D. and Baffi, M. (2018), Biomass sorghum as a novel substrate in solid-state fermentation for the production of hemicellulases and cellulases by *Aspergillus niger* and *A. fumigatus*. *Journal of Applied Microbiology*, 124, 708-718. <https://doi.org/10.1111/jam.13672>.
30. Ottenheim, C., Verdejo, C., Zimmermann, W., & Wu, J. C. (2014). Hemicellulase production by *Aspergillus niger* DSM 26641 in hydrothermal palm oil empty fruit bunch hydrolysate and transcriptome analysis. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 118(6). <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiosc.2014.05.014>.

31. Upadhyaya, J., Joshi, D. R., Lekhak, B., Kumar Chaudhary, D., Raj Pant, B., Raj Bajgai, T., et al. (2020). Production, Characterization, and Industrial Application of Pectinase Enzyme Isolated from Fungal Strains. *Fermentation*, 6(2), 59. MDPI AG. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.3390/fermentationn6020059>
32. Li Q., Ray C., Callow N., Loman A., Islam A., Ju LK. (2020). *Aspergillus niger* production of pectinase and α -galactosidase for enzymatic soy processing. *Enzyme and Microbial Technology*, 134(1). <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2019.109476>.
33. Scurria, A., Sciortino, M., Presentato, A., Lino, C., Piacenza, E., Albanese, L., Zabini, F., et al. (2020). Volatile Compounds of Lemon and Grapefruit IntegroPectin. *Molecules*, 26(1), 51. MDPI AG. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.3390/molecules26010051>
34. Rojas, P., Perea, A., & Ortíz, C. (2007). Determinación por HPLC de flavanonas en jugos cítricos de variedades cultivadas en Santander. *Scientia Et Technica*, 13(33).
35. Yun, D. & Liu, J. (2022). Recent advances on the development of food packaging films based on citrus processing wastes: A review. *Journal of Agriculture and Food Research*, 9. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100316>.
36. Zehra, M., Syed, M. N., & Sohail, M. (2020). Banana Peels: A Promising Substrate for the Coproduction of Pectinase and Xylanase from *Aspergillus fumigatus* MS16. *Polish journal of microbiology*, 69(1), 19–26. <https://doi.org/10.33073/pjm-2020-002>
37. Larios-Cruz, R., Buenrostro-Figueroa, J., Prado-Barragán, A., Rodríguez-Jasso, R., & Aguilar, C. 2016. Perfil respirométrico de *Aspergillus niger* GH1 por fermentación en estado sólido sobre residuos de toronja. *Agronomía Colombiana*, 34(1): S1232-S1235.
38. Abdel-Nabey, M. A., Sherief, A. A., & EL-Tanash, A.B. (2011). Tannin Biodegradation and Some Factors Affecting Tannase Production by Two *Aspergillus* sp. *Biotechnology*. 10(2):149-158. <http://dx.doi.org/10.3923/biotech.2011.149.158>.
39. Al-Manhel, A. & Al-fekaiki, D. (2019). Purification and characterization of tannase from the local isolate of *Aspergillus niger*. 7. 29-34. <http://dx.doi.org/10.7324/JABB.2019.70106>.
40. Jiménez, N., Esteban-Torres, M., Mancheño, J. M., de las Rivas, B., & Muñoz, R. (2014). Tannin Degradation by a Novel Tannase Enzyme Present in Some *Lactobacillus plantarum* Strains. *Applied and Environmental Microbiology Journal*, 80 (10):2991-2997
41. Reges de Sena A., Morgana de Melo-Lopes L., Jamesse-Gouveia M., Gouveia M., C., Rodrigues M., Campos-Leite T., Souza-Lima K., Aparecida-Moreira K. & Aparecida K. (2021) Tannin biodegradation by tannase from *Serratia marcescens*: optimization of production by response surface methodology and its partial characterization. *Chemical Engineering Communications*, 208:10, 1369-1384.

42. Sepúlveda, L., De la Cruz, R., Buenrostro-Figueroa, J., Ascacio-Valdés, J. & Aguilera-Carbó, A., Prado, L., Rodríguez, R. & Aguilar, C. (2016). Effect of different polyphenol sources on the efficiency of ellagic acid release by *Aspergillus Niger*. *Revista Argentina de microbiología*, 48, 1-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ram.2015.08.008>.
43. Huynh N. T., Camp, J., Smagghe, G., & Raes, K. (2014). Improved Release and Metabolism of Flavonoids by Steered Fermentation Processes: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 15: 19369-19388. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms151119369>.
44. Wen, Q., Cao, X., Chen, Z., Xiong, Z., Liu, J., Cheng, Z., Zheng, Z., Long, C., Zheng, B. & Huang, Z. (2020). An overview of *Monascus* fermentation processes for monacolin K production. *Open Chemistry*, 18(1), 10-21. <https://doi.org/10.1515/chem-2020-0006>
45. Chuenjit-Chancharonpong, P., Chuan H., & Shyang-Chwen S. (2012). Enzyme Production and Growth of *Aspergillus oryzae* S. on Soybean Koji Fermentation. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, 2(4). <http://dx.doi.org/10.7763/IJBBB.2012.V2.106>
46. Adebo, O. A., & Medina-Meza, I. (2020). Impact of Fermentation on the Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Whole Cereal Grains: A Mini Review. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(4), 927. <https://doi.org/10.3390/molecules25040927>
47. Stabrauskiene, J., Marksa, M., Ivanauskas, L., Bernatoniene, J. (2022). Optimization of Naringin and Naringenin Extraction from Citrus × paradisi L. Using Hydrolysis and Excipients as Adsorbent. *Pharmaceutics*, 14, 890. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14050890> Academic Editors: Donatell
48. Xi, W., Zhang, G., Jiang, D. & Zhou, Z. (2015). Phenolic compositions and antioxidant activities of grapefruit (*Citrus paradisi* Macfadyen) varieties cultivated in China. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 66(8). <http://dx.doi.org/10.3109/09637486.2015.1095864>
49. Ntana, F., Sarazin, C., Figge, R. & Mortensen, U. (2020). *Aspergillus*: A Powerful Protein Production Platform. *Catalysts*, 10. <http://dx.doi.org/10.3390/catal10091064>.
50. Francisc, D., Vodnar, D. & Socaciu, C. (2016). Effects of solid-state fermentation with two filamentous fungi on the total phenolic contents, flavonoids, antioxidant activities and lipid fractions of plum fruit (*Prunus domestica* L.) by-products. *Food Chemistry*, 209. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.016>.



Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica

Página principal: www.riit.com.mx

Influencia del consumo de amaranto en el perfil antropométrico y hematológico de niños en edad escolar con talla baja para su edad

Influence of amaranth consumption on the anthropometric and hematological profile of school-age children with low height for age

Cano-Gómez, C.I.¹, Veana, F.¹, Calva-Cruz, O.J.², Espitia-Rangel, E.³, Barba-de la Rosa, A.P.^{2*}

¹ Laboratorio de Análisis de Alimentos, Departamento de Ingenierías, Tecnológico Nacional de México/IT de Ciudad Valles, Ciudad Valles, S.L.P., México.

² IPICT, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A. C. San Luis Potosí, S.L.P., México.

³ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, 56250 Texcoco, Estado de México, México.
17690449@tecvalles.mx; fabiola.veana@tecvalles.mx; oscar.calva@ipicyt.edu.mx; espitia.eduardo@inifap.gob.mx; apabarba@ipicyt.edu.mx*

Innovación tecnológica: Uso de granos subutilizados para incrementar la seguridad alimentaria.

Área de aplicación industrial: alimentaria, farmacéutica, suplementos alimenticios.

Recibido: 01 junio 2022

Aceptado: 26 diciembre 2022

Abstract

Malnutrition, especially in school-age children, is still a public health problem in Mexico. Particularly, in the state of San Luis Potosi, chronic undernutrition is given with higher prevalence in rural areas of the Huasteca Potosina. The supplementation of the children's diets with nutritious and nutraceutical foods, such as amaranth, have been proposed as an alternative to improve the children's health. Amaranth seed contains high quality proteins due to their good balance of essential amino acids, fulfilling the requirements for proper development of both children and adults. The objective of this work was to identify the rural area with the highest prevalence of chronic child undernutrition and to determine the effect of amaranth consumption on the anthropometric and hematological profile of school-age children with low height-for age. The selection of children was based on the reference growth standards for children defined by the World Health Organization. The participating children live in adobe houses with palm roofs, unpaved

streets, basic services of electricity and drinking water, walk long distances to attend school and only the support of a basic food basket to eat. All participating children took an oral antiparasitic medication at the beginning of the study, and the diet was supplemented with flour and popped amaranth grain for a period of 90 days. At the beginning and end of the study, anthropometric parameters were measured and blood and stool samples were taken. At the end of the study, no significant increase in the children's height was observed; however, an increased hemoglobin levels in the blood was noted. The presence of parasites in the stool, especially *Blastocystis* spp., which is related to intestinal inflammation and diarrheal episodes, was observed at the end of the study. Improvements in the environmental conditions of the children's habitat should be considered in order to improve intestinal health and therefore the overall health of the children.

Keywords: Anthropometric parameters, amaranth, undernutrition, amaranth protein, low height.

Resumen

La malnutrición, especialmente en niños de edad escolar, es aún un problema de Salud Pública en México. Particularmente, en el estado de San Luis Potosí la desnutrición crónica se presenta con mayor prevalencia en las zonas rurales de la Huasteca Potosina. La suplementación de la dieta de los niños con alimentos nutritivos y nutracéuticos, tales como el amaranto, se ha propuesto como una alternativa para mejorar la salud de los niños. La semilla de amaranto contiene proteínas de alta calidad debido al buen balance de aminoácidos esenciales cumpliendo lo requerido para un buen desarrollo tanto para niños como para adultos. El objetivo de este trabajo fue identificar la zona rural de mayor prevalencia con desnutrición crónica infantil y determinar el efecto del consumo de amaranto en el perfil antropométrico y hematológico de niños en edad escolar con talla baja-para-edad. La selección de niños se realizó considerando los estándares de crecimiento de referencia para niños definidos por la Organización Mundial de la Salud. Los niños participantes viven en casas de adobe con techo de palmas, calles sin pavimentar, con servicios básicos de luz y agua potable, caminan grandes distancias para asistir a la escuela y solo cuentan con el apoyo de la canasta básica para comer. Todos los niños participantes tomaron un antiparasitario oral al inicio del estudio y se procedió con la suplementación de la dieta con harina y grano reventado de amaranto por un periodo de 90 días. Al inicio y al término del estudio se midieron los parámetros antropométricos y se realizaron tomas de muestra sanguínea y de heces fecales. Al término del estudio no se observó un incremento relevante en la estatura de los niños; sin embargo, se apreció el incremento en los niveles de hemoglobina en sangre. La presencia de parásitos en las heces, en especial de *Blastocystis* spp. el cual está relacionado con inflamación intestinal y episodios diarreicos, fue observada al final del estudio. Las mejoras en las condiciones ambientales del hábitat de los niños deberán ser consideradas con el fin de mejorar la salud intestinal y por lo tanto la salud general de los niños.

Palabras clave: Amaranto, desnutrición, parámetros antropométricos, proteína, talla baja, zona rural.

1. Introducción

La malnutrición es un término que engloba diferentes manifestaciones de una nutrición inadecuada, incluyendo la desnutrición y la obesidad, las cuales se caracterizan por un desequilibrio de la ingesta y el gasto de energía [1]. Alrededor del 45% de las muertes en niños menores de 5 años, ligadas con la desnutrición, ocurren en países de bajo- o medio-ingresos, en donde al mismo tiempo, el sobrepeso y la obesidad van en incremento [2].

La relación de peso/altura o índice de masa corporal (kg/m^2) es un parámetro utilizado para medir el grado de nutrición y salud de un individuo, pero actualmente se les ha dado mayor importancia a los índices Z introducidos por la Organización Mundial de la Salud para la medición de la condición de salud en niños [3,4]. Este parámetro se divide en tres: 1) peso/edad (WAZ) son niños clasificados como bajo peso o severamente bajo peso; 2) la relación altura por edad (HAZ), refiere a la desnutrición crónica o retraso en el crecimiento; 3) peso/altura (WHZ) que refiere a la malnutrición aguda en niños o niños famélicos. En el año 2020, se registró que en todo el mundo 149 millones de niños menores de 5 años fueron diagnosticados como desnutrición crónica (valor HAZ), 45 millones fueron determinados famélicos (valor WHZ) y 38.9 millones fueron registrados con sobrepeso u obesidad [2]. La desnutrición crónica y ciertas deficiencias nutricionales son factores clave en la disminución de sobrevivencia infantil, una mala calidad de salud durante la niñez y la adultez y disminución de la capacidad de aprendizaje. La desnutrición crónica en la infancia tiene consecuencias en la salud para toda la vida, incluido un mayor riesgo de sobrepeso y obesidad en la adultez. La obesidad conlleva a desarrollar enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2, hipertensión [2, 5, 6]. En México, la

desnutrición crónica continúa siendo un problema de Salud Pública [7], en especial en la zona rural de la Huasteca Potosina es un problema altamente notorio [8].

Existen diversos alimentos que han sido estudiados y se ha observado que cumplen con los nutrientes necesarios para el buen desarrollo infantil. Entre estos se encuentra el amaranto (*Amaranthus* spp.), el cual posee un excelente balance de aminoácidos esenciales [9, 10]. Actualmente al amaranto se le denomina “alimento funcional” o “nutracéutico”, debido a que las proteínas al ser digeridas liberan péptidos con diferentes actividades biológicas tales como antihipertensivos [11], antidiabéticos [12], así como cáncer-preventivos [13]. La semilla de amaranto también contiene fitoquímicos con alto poder antioxidante tales como rutina y nicotiflorina [14], y presentan un alto contenido de vitaminas (riboflavina, niacina), minerales (calcio, magnesio y hierro) y aceites con altos contenidos de escualeno [15,16]. A los aceites de amaranto (escualeno) se les han atribuido propiedades hipocolesterolémicas, antioxidantes y hepatoprotectivas [17-20]. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto del consumo de harina y grano reventado de amaranto sobre el perfil antropométrico y hematológico de niños en edad escolar con talla baja. También se realizó un estudio coproparasitológico en las heces de niños y se realizaron encuestas del entorno ambiental donde habitan estos niños.

2. Materiales y métodos

Selección de población

Se realizó el registro y aprobación del proyecto ante el comité de ética de Servicios de Salud del Estado de SLP (SLP-01-2019). Se generó un convenio de trabajo con la Unidad Regional de Servicios Educativos Huasteca Norte (URSEHN), perteneciente a la secretaria de educación pública (SEP), para

permitir el acceso a las escuelas con reporte previo de prevalencia de niños con baja talla (ENSANUT, 2012) [8]. Se seleccionaron tres escuelas rurales de la Zona Huasteca donde todos los niños entre 5 y 7 años, quienes fueron medidos en talla y peso utilizando báscula y estadímetro. Las mediciones antropométricas de cada niño se realizaron descalzos, con ropa ligera y en ayuno en una báscula digital especializada de Bath Styles y medidos con un estadímetro de pared.

De acuerdo a los criterios de talla esperada para edad o valor HAZ [4], se seleccionaron 37 niños (22 niños, 15 niñas) que fueron clasificados en dos categorías en función del valor HAZ: el grupo control o con talla normal ($n = 28$) y grupo de desnutrición crónica ($n = 9$). Tanto padres de familia como niños participantes firmaron los consentimientos informados y se procedió a la toma inicial de muestra sanguínea y de heces fecales.

Suplementación dietética con amaranto y seguimiento de los niños participantes

Harina y grano reventado de *Amaranthus hypochondriacus* fueron amablemente donados por INIFAP-Texcoco. Se suministró una dosis diaria de amaranto durante 90 días a la población con baja talla ($n = 9$). Se utilizó el grano reventado de amaranto en mayor dosis para su consumo diario, como una “botana” entre comidas para suplir a alimentos chatarra, se complementó con harina de amaranto 4g/día que se daba a los niños en los licuados. Los productos de amaranto cumplieron con la norma NMX-FF-116-SCFI-2010 [21].

Perfil hematológico

Las muestras sanguíneas fueron tomadas vía intravenosa con tubos BD Vacutainer^(R) con EDTA K2 (Becton Dickinson, Querétaro, México). Las muestras se homogenizaron en mezclador oscilatorio para tubos marca

Premier modelo RM-1 (Prolab, Jalisco, México) durante 15 min. Posteriormente, los tubos de muestras sanguíneas se colocaron en el analizador automático para Hematología Mindray BC-3000 Plus (Labtronic, C.A., Caracas, Venezuela). La muestra (13 μ L) se inyecta automáticamente y la Biometría Hemática se analiza con los parámetros de la serie roja, serie blanca y serie plaquetaria.

Perfil coproparasitoscópico

Las muestras de heces fueron tomadas al inicio y al final de la administración del amaranto, la muestra recién emitida se tomó en vaso copro estéril y se trasladaron en hielo al laboratorio para su posterior análisis. Se utilizó la técnica de Faust que consiste en trabajar con 1-2 g de muestra de heces, a la cual se le adicionó 7-10 mL de agua destilada, se filtró con apoyo de un colador de plástico y se vació directamente al tubo de ensaye con ayuda de un embudo. Posteriormente, se centrifugó por 5 min a 1500 rpm, para después decantar el sobrenadante. Se adicionaron 10 mL de agua destilada, nuevamente se centrifugó por 5 min a 1500 rpm (se repitió hasta que el sobrenadante quedó limpio y decante). Inmediatamente se adicionaron 10 mL de solución de sulfato de zinc y nuevamente se centrifugó 1500 rpm. Transcurridos los 5 min, se colocó el tubo la gradilla y se adicionó por goteo sulfato de zinc hasta el ras del tubo de ensaye, se le colocó en una laminilla sobre el menisco y se dejó reposar 2 min. Adicionalmente, se agregó Lugol sobre el porta-objetos y se preparó una segunda laminilla donde se decantó el sobrenadante del tubo y con una pipeta se tomó el líquido de la superficie y sedimentación. Ambas laminillas se observaron al microscopio de marca Cole Parmer en el objetivo 40x.

Estudio del hábitat de la población

Para identificar los factores (sociales, ambientales, económicos y familiares)

relacionados con el estado de la salud de los niños, se realizaron encuestas que consistieron en 21 preguntas que abarcan tipo de construcción del hogar, acceso a servicios básicos, tipo de alimentación, tipo de alimentación del niño, tipo de cocina y servicios de agua potable.

Análisis estadísticos

Se realizó una prueba t de Student a dos colas ($p < 0.05$). Los valores están expresados como la media $\pm$ desviación estándar.

3. Resultados

No se observaron cambios significativos en el perfil antropométrico

La selección de niños que asisten a escuelas rurales en Zona Huasteca, Ciudad Valles S.L.P., fue de acuerdo a los parámetros de peso-edad o valor HAZ reportado por la WHO [4], la cual relaciona el estado nutricional del niño. De acuerdo al índice

HAZ, el grupo control de niños mostró una altura promedio de 120.4 cm, mientras que los niños de bajo peso el promedio de altura fue de 111.8 cm. Después del consumo de amaranto por tres meses, el cambio en peso-talla no fue significativo, esto pudo deberse al poco tiempo del ensayo y/u otros factores.

Los niveles de hemoglobina incrementaron en algunos niños

En general, los datos mostraron que no existía la presencia de alguna patología grave en los niños participantes, pero tampoco se observaron diferencias significativas entre los niños de bajo peso antes y después de la ingesta de amaranto (Tabla 1). Sin embargo, debido a la variación intrínseca de cada individuo, los datos fueron analizados en forma individual, observando un incremento en los niveles de hemoglobina en tres de los niños bajo peso después de consumir amaranto (Figura 1).

Tabla 1. Parámetros de biometría hemática al inicio y al término de la suplementación de la dieta con amaranto.

Parámetro	Talla normal	Talla baja		Límites biológicos
		Inicio	Fin	
Eritrocitos ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	4.88 ± 0.2^a	4.77 ± 0.3^b	4.69 ± 0.3^b	4.3-5.2
Hemoglobina (g/dL)	12.9 ± 0.7^b	12.8 ± 0.8^b	13.6 ± 0.6^a	12-14
Hematocrito (%)	40.3 ± 2.0^b	40.2 ± 2.1^b	42.4 ± 1.5^a	34-43
Volumen globular medio (fL)	81.7 ± 5.5^b	84.3 ± 2.1^b	90.6 ± 2.5^a	84-104
Hemoglobina corpuscular media (pg)	26.9 ± 1.6^b	26.9 ± 1.4^b	31.4 ± 5.0^a	27- 35
Concentración media de hb corpuscular (gr/dL)	31.9 ± 1.0^b	31.9 ± 1.0^b	32 ± 0.4^a	31 - 36
Leucocitos totales ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	9.29 ± 3.0^a	6.85 ± 2.1^b	6.0 ± 0.7^b	4.5-13

Los valores representan el promedio de la medición $\pm$ desviación estándar.

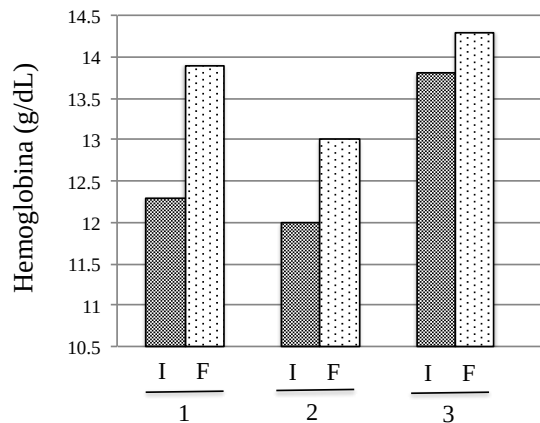


Figura 1. Niveles de hemoglobina (g/dL) en los niños 1, 2 y 3 de talla baja al inicio (I) y después de consumir por 3 meses (F) amaranto.

***Blastocystis* spp. fue detectado en heces de los niños al inicio y al final del estudio**

El análisis coproparasitoscópico mostró que al inicio del tratamiento los niños presentaban una gran cantidad de parásitos en heces, dentro de las cuales se observó *Blastocystis* sp. *Giardia lamblia*, *Endolimax* sp. y *Entamoeba*

coli. Al inicio del estudio, de los 28 niños con talla normal, 13 presentaban parasitosis, mientras que de los 9 de talla baja 6 presentaban parasitosis. Al final del estudio sólo *Blastocystis* spp. permaneció persistente en las heces de los niños.

Los participantes cuentan con acceso a agua potable pero no a viviendas dignas

Los principales resultados de la encuesta aplicada para el reconocimiento de los factores sociales, ambientales, económicos y familiares que se asocian con el estado de la salud de los niños se presentan en la Tabla 2. De esta encuesta destaca el uso de letrina, madera como combustible, piso de la vivienda de tierra, la edad de la madre de 20-24 años al nacimiento del niño y el nivel de estudio de la madre en la mayoría fue secundaria. Además de que los niños consumen alimentos industrializados de 3 a 4 veces por semana.

Tabla 2. Reconocimiento de los factores que condicionan a los niños en edad escolar con una talla baja para su edad.

Pregunta	Respuestas		
¿Quién proporciona la información?	Madre (93%)	Abuela (7%)	
¿Con qué tipo de instalación sanitaria cuenta?	Drenaje (14%)	Letrina (86%)	
¿Con qué tipo de combustible cocina?	Gas (21%)	Madera (79%)	
¿Su cocina está en el mismo lugar donde duerme?	Si (50%)	No (50%)	
¿Con qué tipo de piso cuenta?	Concreto (50%)	Tierra (50%)	
¿De qué material está construida su casa?	Madera (36%)	Concreto (64%)	
¿Cuenta con agua potable?	Si (100%)		
¿Qué edad tenía la madre al nacimiento del niño?	De 15 a 19 (22%)	De 20 a 24 (71%)	25 o mas (7%)
¿Cuál es su nivel de educación (de la madre)?	Primaria (7%)	Secundaria (50%)	Preparatoria (43%)
¿El niño consume alimentos industrializados?	Si (86%)	No (14%)	
¿Ha recibido apoyo gubernamental por parte de un programa?	Si (29%)	No (71%)	

Discusión

Aunque la pobreza se ha asociado con la inseguridad alimentaria y con el principal riesgo de la desnutrición infantil, los estudios epidemiológicos han enfatizado que la desnutrición es una condición compleja y que existen otros factores más que la simple falta de alimentos. La desnutrición en niños se considera un ciclo vicioso de infecciones recurrentes e inmunidad deteriorada lo que conlleva a un mayor deterioro de la desnutrición [22, 23]. El estado nutricional de los niños, aunque cuenten con acceso a agua potable, se ve afectado por el tipo de vivienda, calidad del aire, la fuente de agua consumida, la defecación abierta, el saneamiento e higiene [24, 25]. Cabe destacar que los niños participantes en este estudio viven en hogares con bajo saneamiento, tales como inadecuadas conexiones al desagüe. Estos niños son hijos de madres jóvenes, entre 20-24 años con al menos la secundaria terminada. Varios reportes indican que los determinantes de la desnutrición infantil son el nivel de educación de las [26]. También se ha indicado que los hijos de madres menores de 20-24 años tienen mayor prevalencia de ser desnutridos crónicos, en contraposición a los hijos de madres mayores de 24 años [27]. Los hogares de niños presentaban aún el uso de madera (leña) para cocinar y es conocido que los efectos del humo que genera la madera aumentan el riesgo de infecciones respiratorias y representa también un determinante de desnutrición crónica en niños [26].

Los resultados mostraron que existió poco cambio en la talla-edad de los niños después de consumir amaranto, sin embargo, tomando las observaciones del tipo de vivienda, edad de las madres, es difícil erradicar la desnutrición cuando no se cambian las condiciones de vivienda. Las malas condiciones ambientales conllevan a infecciones parasitarias recurrentes, y aunque

al inicio del estudio se les administró antiparasitarios a todos los niños, después de tres meses de seguimiento, los resultados mostraron la presencia de *Blastocystis* sp., el cual es un protista unicelular, enteroparasítico de gran prevalencia el cual se ha asociado con procesos diarreicos, enfermedad inflamatoria intestinal y colitis ulcerosa [28]. Las infecciones recurrentes con parásitos se deben a la falta de servicios básicos como agua potable, desagüe y el contacto directo con personas infectadas [29, 30]. Se ha descrito también que las intervenciones en las mejoras y mantenimiento de la infraestructura del entorno de los niños es de gran importancia con el fin de observar una mejora en la salud de los niños y sus familias [31].

Se sabe que la presencia de parásitos puede condicionar a bajos niveles de hemoglobina, con eventual presencia de anemia [32]. El amaranto contiene hasta un 7.61 mg de hierro y 82 microgramos de ácido fólico, niveles que son adecuados para la dieta. Estos niveles de hierro en amaranto podrían estar relacionados con el incremento observado en los niveles de hemoglobina en los niños. Está demostrado que el suministro de hierro es una clara estrategia para mejorar el estado en niños con o sin desnutrición, esto fue empleado en el país de Kenia donde se proporcionó mezclado con maíz a los niños, dando como resultado la mejora de los niveles de hierro [33].

Aunque en este estudio se suministró grano reventado, el cual lleva un proceso de cocción, se ha reportado que los nutrientes como las vitaminas del grupo B o elementos esenciales como el hierro, no se ven afectados al someterse a 180 °C en una placa caliente ni a una cocción de 200 °C [34]. Esto es una indicación que el grano reventado contiene su funcionalidad como alimento nutracéutico, pero más estudios deberán realizarse en este sentido. Por otro lado, la calidad de proteína de amaranto, la cual aporta aminoácidos esenciales, ayuda a una mejora en la nutrición

[15, 35]. La ingesta de proteína de buena calidad se ha relacionado con la mejora de la salud intestinal a través del remodelamiento de la microbiota intestinal [36]; sin embargo, las infecciones con parásitos en forma recurrente inducen la perturbación de la microbiota intestinal, cambiando la homeostasis corporal e incluso alterando niveles conductuales [37]. Por lo tanto, los estudios de la microbiota intestinal en este grupo de niños bajo-peso-edad está siendo analizado.

4. Conclusiones

En la zona rural de la Huasteca Potosina, aún se encuentra una gran población de niños con desnutrición crónica. Estos niños viven en condiciones de poco saneamiento por lo que muestran infecciones parasitarias recurrentes lo que conlleva a episodios diarreicos y pérdida del apetito resultando en el deterioro de la salud. Por lo tanto, las intervenciones de la suplementación de la dieta de los niños con alimentos nutritivos no serán efectivos si no se mejora primero su calidad de vida. Por consiguiente, para poder lograr erradicar la desnutrición en zonas rurales de México se deberán tomar acciones no sólo en mejorar la calidad de la dieta de los niños, pero de primera acción se deberán mejorar las condiciones de infraestructura en las zonas rurales.

4. Agradecimientos

Agradecemos al DIF-Estatal Ciudad Valles por el apoyo recibido para el acercamiento con escuelas rurales de la zona Huasteca, así como a los Directores de las Escuelas Rurales. Agradecemos el apoyo al Fondo Sectorial de Investigación en Salud y Seguridad Social por el proyecto apoyado con clave A3-S-37825. Agradecemos el apoyo técnico de Fernando D. Urbietta Villalobos.

5. Referencias

1. WHO, "Double burden of malnutrition", *World Health Organization*, 2017, <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-NMH-NHD-17.3>. Revisada mayo 2022.
2. WHO, "Malnutrition" *World Health Organization*, 2021. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/malnutrition>. Revisado mayo 2022.
3. Iddrisu, I., Monteagudo-Mera, A., Poveda, C., Pyle, S., Shahzad, M., Andrews, S., Walton, G.E., "Malnutrition and gut microbiota in children", *Nutrients*, 13, 2021, 2727. <https://doi.org/10.3390/nu13082727>.
4. WHO, "Child Growth Standards: Length/Height-for-Age, Weight-for-Age, Weight-for-Length, Weight-for-HEIGHT and body Mass Index-for-Age: Methods and Development", 2006. <https://www.who.int/publications/i/item/924154693X>. Revisado mayo 2022.
5. Fernández, A., Martínez, R., Carrasco, I., Palma, A., "Impacto social y económico de la doble carga de la malnutrición. Modelo de análisis y estudio piloto en Chile, el Ecuador y México. 2017. Publicación de las Naciones Unidas. <https://www.cepal.org/es/publicaciones/42535-impacto-social-economico-la-doble-carga-la-malnutricion-modelo-analisis-estudio>
6. UNICEF. Salud y nutrición. 2022. <https://www.unicef.org/mexico/salud-y-nutricion>. Revisado mayo 2022.
7. Rivera-Dommarco, J.A, Cuevas-Nasu L, González de Cosío, T., Shamah-Levy, T., García-Feregrino, R., "Desnutrición crónica en México en el último cuarto de siglo: análisis de cuatro encuestas nacionales", *Salud Pública de México*, 55, 2013, S161-

- S169.
https://www.scielo.org/article/ssm/content/raw/?resource_ssm_path=/media/assets/spm/v55s2/v55s2a13.pdf.
8. Barba de la Rosa, A.P., Gueguen, J., Paredes-López, O., Viroben, G., "Fractionation procedures, electrophoretic characterization, and amino acid composition of amaranth seed proteins", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(6), 1992, 931-936.
<https://doi.org/10.1021/jf00018a002>.
 9. Barba de la Rosa, A.P., Barba-Montoya, A., Martínez-Cuevas, P., Hernández-Ledesma, B., De León-Rodríguez, A., González, C., "Tryptic amaranth glutelin digests induce endothelial nitric oxide production through inhibition of ACE: antihypertensive role of amaranth peptides", *Nitric Oxide-Biology and Chemistry Journal*, 23, 2010, 106-111.
<https://doi.org/10.1016/j.niox.2010.04.006>.
 10. Motta, C., Castanheira, I., Gonzalez, G.B., Delgado I., Torres, D., Santos, M., Matos A.S., "Impact of cooking methods and malting on amino acids content in amaranth, buckwheat and quinoa", *Journal of Food Composition and Analysis*, 76, 2019, 58-65.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.10.001>.
 11. Velarde-Salcedo, A.J., Barrera-Pacheco, A., Lara-González, S., Montero-Morán, G.M., Díaz-Gois, A., González de Mejía, E., Barba de la Rosa, A.P., "In vitro inhibition of dipeptidyl peptidase IV by peptides derived from the hydrolysis of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.) proteins", *Food Chemistry* 136(2), 2013, 758-764.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.032>.
 12. Maldonado-Cervantes, E., Jeong, H.J., León-Galván, F, González de Mejía, E., deLumen, B.O., Barba de la Rosa, A.P., "Amaranth lunasin-like peptide internalizes into the cell nucleus and inhibits chemical carcinogen-induced transformation of NIH-3T3 cells", *Peptides*, 31(9), 2010, 1635-1642.
<https://doi.org/10.1016/j.peptides.2010.06.014>.
 13. Barba de la Rosa, A.P., Fomsgaard, I.S., Laursen, B., Mortensen, A.G., Olvera-Martínez, L., Silva-Sánchez, C., Mendoza-Herrera, A., González-Castañeda, J., De León-Rodríguez, A., "Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) as an alternative crop for sustainable food production: Phenolic acids and flavonoids with potential impact on its nutraceutical quality", *Journal of Cereal Science*, 49, 2009, 117-121.
<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2008.07.012>.
 14. Morales-Guerrero, J.C., Vázquez-Mata, N., Bressani-Castignoli, R., "El amaranto: características físicas, químicas, toxicológicas y funcionales y aporte nutricional", *Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán*, 2009, 53-89. ISBN:978-607-7797-00-5.
 15. Dus-Zuchowska, M., Walkowiak, J., Morawska, A., Kryzanowska-Jankowska, P., Miskiewicz-Chotnicka, A., Przyslawski, J., Lisowska, A., "Amaranth oil increases total and LDL cholesterol levels without influencing early markers of atherosclerosis in an overweight and obese population: A randomized double-blind cross-over study in comparison with rapeseed oil supplementation", *Nutrients*, 11(12),

- 2019, 3069.
<https://doi.org/10.3390/nu11123069>.
16. Czerwiński, J., Bartnikowska, E., Leontowicz, H., Lange, E., Leontowicz, M., Katrich, E., Trakhtenberg, S., Gorinstein, Sh., "Oat (*Avena sativa* L.) and amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) meals positively affect plasma lipid profile in rats fed cholesterol-containing diets", *Journal of Nutritional Biochemistry*, 15, 2004, 622-629.
<https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2004.06.002>.
 17. Martirosyan, D.M., Miroshnichenko, L.A., Kulakova, S.N., Pogojeva, A.V., Zolodov, V.I., "Amaranth oil application for coronary heart disease and hypertension", *Lipids in Health and Disease* 6(1), 2007, 6, 1.
<https://doi.org/10.1186/1476-511X-6-1>.
 18. Kim, S.K., Karadeniz, F., "Biological importance and applications of squalene and squalane". En: *Advances in Food and Nutrition Research*, 65, 2012, 224-233.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416003-3.00014-7>.
 19. Moszak, M., Zawada, A., Juchacz, A., Grzymislawski, M., Bogdanski, P., "Comparison of the effect of rapeseed oil or amaranth seed oil supplementation on weight loss, body composition, and changes in the metabolic profile of obese patients following 3-week body mass reduction program: a randomized clinical trial", *Lipids in Health and Disease* 19, 2020, 143.
<https://doi.org/10.1186/s12944-020-01330-7>.
 20. ENSANUT. *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición*, 2012.
<https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2012/informes.php>.
 21. NMX-FF-116-SCFI-2010, Productos agrícolas destinados para consumo humano. Grano reventado de amaranto (*Amaranthus* spp.) para uso y consumo humano-Especificaciones y método de ensayo.
http://sitios.dif.gob.mx/alimentacion/docs/normas/origen_vegetal/NMX-FF-116-SCFI-2010_amaranto.pdf.
 22. Kane, A.Vc, Dinh, D.M., Ward, H.D., "Childhood malnutrition and the intestinal microbiome", *International Pediatric Research Foundation, Inc*, 77(1), 2015,
<https://doi.org/10.1038/pr.2014.179>.
 23. Gómez-Gallego, C., García-Mantrana, I., Martínez-Costa, C., Salminen, S., Isolauri, E., Collado, M.C., "The microbiota and malnutrition: Impact of nutritional status during early life", *Annual Reviews*, 39, 2019, 267-290.
 24. Jaramillo, M., Sánchez, A., "Impacto del programa Juntos sobre nutrición temprana", *Documento de Investigación: salud y desarrollo humano*, N°2012-001, 2012. ISBN:978-9972-615-59-7.
 25. Jain, P., Virk, A., Khan, Z.A., Mittal, A., Singh, H., Nazir, M., "A Study of Environmental Factors Affecting Nutritional Status of under 5 Children in Rural Area of North India", *Indian Journal of Public Health Research and Development*, 9(9), 2018, 94-99.
<https://doi.org/10.5958/0976-5506.2018.00975.0>.
 26. García-Cruz, L.M., "Factores asociados a la desnutrición crónica infantil en Mozambique", *Thesis Doctoral*, 2018.
<http://hdl.handle.net/10553/55200>
 27. Paredes-Mamani, R.P., "Efecto de factores ambientales y socioeconómicas del hogar sobre la

- desnutrición crónica de niños menores de 5 años en el Perú”, *Revista de Investigaciones Altoandinas - Journal of High Andean Research*, 22(3), 2020, 226–237. <https://doi.org/10.18271/ria.2020.657>.
28. Del Coco, V.F., Molina, N.B., Basualdo, J.A., Córdoba, M.A., “*Blastocytis* spp.: avances, controversias y desafíos futuros”, *Revista Argentina de Microbiología*, 49, 2017, 110–118. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.08.004>.
 29. Muzzo, S., “Crecimiento normal y patológico del niño y del adolescente. *Revista Chilena de Nutrición*, 30(2), 2003, 92–100. <https://doi.org/10.4067/s0717-75182003000200003>
<http://www.grade.org.pe/upload/publicaciones/archivo/download/pubs/ddt61.pdf>.
 30. Devera, R., Soares, A., Rayarán, D., Rayarán, D., Amaya, I., Blanco, Y., “Enteroparasitosis en escolares: importancia de los parásitos asociados”, *Revista Venezolana de Salud Pública*, 8(1), 2020, 49–64. <https://revistas.uclave.org/index.php/rvsp/article/view/2877/1798>.
 31. Monárrez-Espino, J., Pérez-Espejo, R., Vázquez-Mendoza, G., Balleza-Carreón, A., Caballero-Hoyos, R., “Intervention to prevent intestinal parasitic reinfections among Tarahumara indigenous schoolchildren in northern Mexico”, *Revista Panamerica de Salud Pública*, 30(3), 2011, 196–203. <https://www.scielosp.org/pdf/rpsp/2011.v30n3/196-203/en>.
 32. Koukounari, A., Estambale, B.B.A., Kiambo Njagi, J., Cundill, B., Ajanga, A., Crudder, C., Otido, J., Jukes, M.C.H., Clarke, S.E., Brooker, S., “Relationships between anaemia and parasitic infections in Kenyan schoolchildren: A Bayesian hierarchical modelling approach”, *International Journal for Parasitology*, 38(14), 2008, 1663–1671. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.05.013>.
 33. Soriano-García, M., Ilnamiqui Arias-Olguín, I., Pablo Carrillo Montes, J., Genaro Rosas Ramírez, D., Silvestre Mendoza Figueroa, J., Flores-Valverde, E., Rita Valladares-Rodríguez, M., “Nutritional functional value and therapeutic utilization of Amaranth”, *Journal of Analytical & Pharmaceutical Research*, 7(5), 2018, <https://doi.org/10.15406/japlr.2018.07.00288>.
 34. Macharia-Mutie, C.W., Moretti, D., Van den Briel, N., Omusundi, A.M., Mwangi, A.M., Kok, F.J., Zimmermann, M.B., Brouwer, I.D., “Maize porridge enriched with a micronutrient powder containing low-dose iron as NaFeEDTA but not amaranth grain flour reduces anemia and iron deficiency in kenyan preschool children”, *Journal of Nutrition*, 142(9), 2012, 1756–1763. <https://doi.org/10.3945/jn.112.157578>.
 35. Iftikhar, M., Khan, M., “Amaranth”, En: *Bioactive Factors and Processing Technology for Cereal Foods*, 2019, 217–232. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-13-6167-8_13.
 36. Wu, S., Bhat, Z.F., Goudner, R.S., Ahmed, I.A.M., Al-Juhaimi, F., Ding, Y., Bekhit, A.E.-D.A., “Effect of dietary protein and processing on gut microbiota- A systematic review”, *Nutrients* 14, 2022, 453. <https://doi.org/10.3390/nu14030453>.

37. Ramírez-Carrillo, E., Gaona, O., Nieto, J., Sánchez-Quinto, A., Cerqueda-García, D., Falcón, L. I., Rojas-Ramos, O.A., González-Santoyo, I., “Disturbance in human gut microbiota networks by parasites and its implications in the incidence of depression”, *Scientific Reports*, 10(1), 2020. 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60562.w>.