

ENERGEIA | Cuaderno de Investigación Vol. 16 Nro. 16 Año 2019 - ISSN 1668-1622
Publicación del Departamento de Investigación Institucional
Facultad de Química e Ingeniería del Rosario
Pontificia Universidad Católica Argentina

AUTORIDADES

DECANA

Ing. Esp. Stella Maris Andretich

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACION

Coordinadora
Dra. Claudia Deco

Comité Científico Asesor:
Dra. Rita Abalone
Instituto de Física Rosario - Conicet

Dr. Hugo D. Navone
Universidad Nacional de Rosario
Instituto de Física Rosario - Conicet

Dra. Marina del Valle Soazo
Universidad Nacional de Rosario
Instituto de Química Rosario (IQUIR) CONICET

Dr. Juan Carlos González
Universidad Nacional de Rosario

Dr. Pablo Andrés Busti
Universidad Nacional de Rosario

Dra. Gisela Noemí Piccirilli
Universidad Nacional de Rosario
Instituto de Química Rosario (IQUIR)
CONICET

Dra. Luciana Pellegrini Malpiedi
Universidad Nacional de Rosario

Dr. Gonzalo Gastón Palazolo
Universidad Nacional de Quilmes - Conicet

Dra. Mercedes Ferreyra de Ruiz Holgado
Universidad Nacional de Tucumán

Dra. Beatriz Fernández Band
Universidad Nacional del Sur

Dra. Silvina C. Pellegrinet
Universidad Nacional de Rosario
IQUIR (CONICET)

Facultad de Química e Ingeniería del Rosario UCA Copy (2019)

Los autores de los artículos publicados en el presente número ceden sus derechos a la editorial, en forma no exclusiva, para que incorpore la versión digital de los mismos al Repositorio Institucional de la Universidad Católica Argentina como así también a otras bases de datos que considere de relevancia académica.

Índice

Presentación	3
Caracterización fisicoquímica de materiales vegetales.	4
Empleo de la probabilidad DP4+ en la asignación de configuración relativa y absoluta de compuestos orgánicos complejos	12
Botellas de PET Aplastadas Verticalmente B-PET-AV destinadas a integrar partes constructivas de viviendas económicas. Verificación sobre su contribución a favorecer el bienestar ambiental interior con impacto en la salud de sus habitantes.	22
Regulación de calidad de agua desde la perspectiva de la Ingeniería y la Economía Ambiental	29
Caracterización de los mecanismos de fitorremediación de <i>Salvinia</i> sp. frente a la exposición a metales pesados y su impacto sobre la fisiología vegetal.	37
Estudio de la degradación de diésel comercial empleando <i>Pseudomonas</i> spp. aisladas de lodos facultativos provenientes de una planta productora de biogás	46
Diseño y modelización de equipo para el estudio del secado convectivo de granos de origen agrícola II	55
Desarrollo de técnicas analíticas para la determinación de compuestos químicos presentes en matrices ambientales complejas	66
Gestión Integral de Residuos Informáticos	68
Introduciendo conocimientos sobre el Pensamiento Computacional en los primeros años de las carreras de ciencia, tecnología, ingeniería y matemáticas	73

Presentación

Presentamos, con gran alegría, esta edición de la Revista “Energeia”. Tenemos gratos motivos para celebrar esta publicación, no solamente por los notables progresos de todos los que participan en los proyectos de investigación que se resumen en las páginas que siguen, sino especialmente en agradecimiento por la confianza depositada en la Facultad por el Dr. Lucas Salvatierra, la Dra. María Marta Zanardi, el Dr. Mauricio Braia, la Dra. María Laura Tondo y la Dra. Luciana Lario, que han solicitado y confirmado su cambio de lugar de trabajo a esta casa. Sumando la radicación, ya del año anterior, del Dr. Leonardo Pérez, son hoy seis los investigadores de CONICET que tienen lugar de trabajo declarado en la Facultad de Química e Ingeniería del Rosario. Le damos a todos ellos la más cordial bienvenida. Se suman a ellos, los becarios doctorales y posdoctorales y otros maestrandos y doctorandos y miembros del Departamento de Investigación que, en sus respectivos proyectos, han avanzado en sus objetivos y contribuido a los progresos de cada uno de los grupos de investigación cuya actividad se detalla en esta revista.

Agradecemos también que, afortunadamente, hemos podido acondicionar un nuevo espacio para este grupo de jóvenes docentes investigadores, que se suma a la plaza que se venía empleando en el segundo piso del edificio “San Marcos” (Cuarto edificio). Proféticamente, San Marcos inicia su Evangelio con las palabras “*1:3 Una voz grita en el desierto: Preparan el camino del Señor, allanen sus senderos*”. Por ello la Facultad de Química e Ingeniería ha allanado en los últimos años, el camino de estos jóvenes entusiastas, férreamente comprometidos con el ideario de la Universidad y el carisma de la Facultad, facilitando espacios y adquiriendo equipamiento para que puedan continuar sus tareas de investigación y de docencia ya que ellas, si bien ejecutadas, han de representar, en su significación última, una verdadera preparación para el camino del Señor. Porque en el desarrollo de estas tareas no sólo se amplía el conocimiento, sino que se extiende la cultura misma, que, en cumplimiento de la misión de la Universidad, ha de tener ese carácter comprometido con el anuncio de la Palabra del Señor.

Estos jóvenes docentes investigadores que en estos tiempos recientes han acreditado su cambio de lugar de trabajo, han retribuido ya, generosamente, haciendo disponible equipamiento y materiales de laboratorio que han procurado mediante la participación y adjudicación de diversos subsidios nacionales y provinciales, así como en su despreñada contribución en las actividades docentes, en la dirección de maestrandos de los posgrados de la Facultad, en la orientación de tesis finales de grado, en su presencia y opinión en los espacios de gestión de la Universidad, en diversas instancias y en el diseño de proyectos tendientes a extender los resultados a la comunidad que acoge a la Universidad. Así, nuestro deseo de integrar de manera natural la actividad de docencia e investigación y de extender esa vocación, que debe ser una sola, a toda la comunidad, se empieza a cristalizar con estos avances.

Como resultados de todos estos esfuerzos de la comunidad toda de la Facultad, la tarea de investigación llevada a cabo en su conjunto por esta unidad académica ha sido confirmada en su calidad, tanto por el nivel de sus publicaciones como por el cumplimiento de los compromisos de investigación de CONEAU que llevara a la exitosa acreditación de las varias carreras ya existentes y de las nuevas. También ha sido públicamente reconocida por la Universidad en la palabra de la Dra. María Clara Zamora, Vicerrectora de Investigación e Innovación Académica, de quien hemos recibido siempre el mayor apoyo, que agradecemos ampliamente, para el desarrollo de todas las dimensiones que hacen a la promoción de la investigación que, partiendo de un fuerte apoyo moral, abarca también aspectos muy concretos como el de facilitarnos espacios nuevos y adquirir equipamiento.

Dejamos así en sus manos la presente edición de “Energeia” con carácter especialmente celebratorio, agradeciendo a todos los lectores que pertenecen a nuestra comunidad educativa su apoyo y compromiso de siempre y anhelando que, para otros lectores, sirva esta revista como una presentación de nuestros trabajos y una invitación a contactarnos para ampliar la comunidad de conocimiento.

Ing. Esp. Stella Maris Andretich
Decana
Facultad de Química e Ingeniería del Rosario
Pontificia Universidad Católica Argentina
Campus Rosario

Caracterización fisicoquímica de materiales vegetales

Physicochemical characterization of vegetable materials

Proyecto: Evaluación de alternativas para el aprovechamiento de biomoléculas y materiales de interés a partir de subproductos de la industria alimentaria

Juliana Galliano^{1,2,3}, María Laura Cardozo¹, Lucía Rodriguez Livov¹, María Gianina Bottero¹, Sofía Baldor¹, Daniela del Rosario Venica¹, Aldana Giudici¹, Valeriana Diani¹, Brenda Paruzzo¹, Wendell Medeiros de Azevedo³, Waleska Rayane Dantas Medeiros de Bezerra³, Francisco Caninde de Sousa Junior³, Delfina Nuara¹, Flavia Marangon¹, Lucas Vitantonio¹, Nicole Nahir Moreno¹, Cristian Imanol Leiva¹, Débora Natalia López^{1,2,4}, Micaela Galante^{1,2}, Pamela Soledad Forastieri^{1,2,4}, Darío Spelzini^{1,2,4}, Enrique David V. Giordano^{1,2,4,5}, María Laura Pedrido¹, Valeria Boeris^{1,2,4}

¹ Universidad Católica Argentina (UCA). Facultad de Química e Ingeniería del Rosario.

² Universidad Nacional de Rosario (UNR). Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Área Fisicoquímica.

³ Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Departamento de Engenharia Química.

⁴ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

⁵ Instituto de Procesos Biotecnológicos y Químicos (IPROBYQ).

Resumen

El cajá es el fruto del árbol *Spondias mombin* L. cuya cáscara y pulpa se consumen frescas o se procesan generando, como subproducto, grandes cantidades de semilla. El primer objetivo de este trabajo fue obtener y caracterizar fisicoquímicamente a una harina de las semillas de cajá de manera de, posteriormente, agregarle valor al subproducto de la industria del jugo de cajá y así contribuir a la reducción de residuos. Se obtuvo un producto rico en fibra, con bajo contenido tanto lipídico como proteico. Se extrajeron los compuestos fenólicos y se determinó su actividad antioxidante, la que resultó muy elevada, comparable a la del maracujá. El segundo objetivo del trabajo fue analizar distintas muestras de yerba mate de manera de evaluar qué parámetros fisicoquímicos son útiles para su clasificación y cuáles se correlacionan entre sí y/o con los atributos sensoriales del mate cocido o del mate de bombilla. Se evaluaron 3 muestras de cada una de seis marcas comerciales, encontrándose correlación entre la granulometría del material, la cinética de lixiviado, la humedad, la capacidad de retención de agua, la densidad aparente y el pH. Por último, se propone para los próximos períodos, la evaluación de la incorporación de bagazo a alimentos cárnicos o alimentos húmedos semisólidos así como el estudio de su estabilidad durante su almacenamiento.

Abstract

Caja is the fruit of the *Spondias mombin* L. which peel and pulp are consumed fresh or processed, generating, as a byproduct, large quantities of seed. The first objective of this work was to obtain and physicochemically characterize a flour from caja seeds in order to subsequently add value to the by-product of the caja juice industry and thus contribute to the reduction of waste. A fiber-rich product was obtained containing low lipid and protein amounts. The phenolic compounds were extracted and their antioxidant activity was determined, which was very high, comparable to that of passion fruit. The second objective of the work was to analyze different samples of yerba mate in order to evaluate which physicochemical parameters are useful for classification and which correlate with each other and / or with the sensory attributes of "mate cocido" or "mate de bombilla". Three samples of each of six trademarks were evaluated, finding a correlation between the granulometry of the material, the leaching kinetics, the humidity, the water retention capacity, the apparent density and the pH. Finally, it is proposed for the next periods, the evaluation of the incorporation of bagasse into meat foods or semi-solid moist foods as well as the study of its stability during storage.

Parte 1: Semillas de frutas

Introducción

Spondias mombin L. es un árbol fructífero que pertenece a la familia Anacardiaceae, es nativo del bosque húmedo de tierras bajas del Amazonas y se encuentra en las zonas tropicales de América, Asia y África. Se lo nombra de diversas maneras: bala, jobito, jobo blanco, jobo corronchoso, hoeboe, acaiba, cajá, pau da tapera, ubo, hobo, ciruela amarilla, red mombin, yellow mombin y hog plum. Es un árbol de hasta 20 m de altura con una copa moderada y dispersa, el fruto es redondo u ovoide de 4 a 43 g de masa y de 20 a 50 mm de largo, la piel se vuelve amarilla a naranja una vez madura y posee un agradable sabor y aroma ácido ^[1]. La cosecha de la fruta fresca se realiza a mano y se consume la pulpa y la cáscara fresca o se procesa para la obtención de jugos, helados y postres ^[2].

Si bien existe información sobre la pulpa, la cáscara y la utilidad de las diferentes partes de la planta, hay pocos datos sobre las semillas del fruto, por lo que se terminan desechando. Si se profundiza el conocimiento sobre este subproducto se podrá evaluar sus potenciales aplicaciones, particularmente como aditivo alimentario ^[3].

El objetivo de este trabajo fue obtener una harina a partir de la semilla de cajá y realizar una primera caracterización fisicoquímica a través de la determinación de la composición química, color, la cuantificación e identificación de los compuestos fenólicos, la determinación de la actividad antioxidante y su comportamiento ácido-base.

Experimental

Se trabajó con semillas de cajá donadas por Sterbom Industria e Comercio Ltda, un procesador de frutas, ubicado en el estado de Parnamirim, RN, Brasil. Las semillas se secaron a 60 °C durante 5 días en un invernadero de circulación y renovación de aire, se trituraron en un molino y se tamizaron en un tamiz con apertura de malla n° 20 para obtener la harina (Figura 1).



Figura 1: Fotografía de la harina de semilla de cajá

El color de la harina fue determinado por el método de análisis de imágenes digital. Para ello, la muestra fue fotografiada en condiciones controladas, sobre fondo color blanco mate e iluminación led uniforme. La harina presentó una coloración marrón, caracterizada por los siguientes valores: $L^*=47\pm 5$ $a^*= 8\pm 1$ y $b^*= 33\pm 1$. La luminosidad (L^*) resultó similar a la de otras harinas de semillas como la chía ^[4] y la malanga ^[5]. Los componentes cromáticos a^* (verde-rojo) y b^* (azul-amarillo) resultaron positivos, indicando que el color de la harina se ubica en el cuadrante rojo-amarillo, con mayor preponderancia de éste último.

La determinación de la composición de la harina de semillas de *Spondias mombin* L. (Figura 2) se realizó utilizando los métodos estándar de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales ^[6].

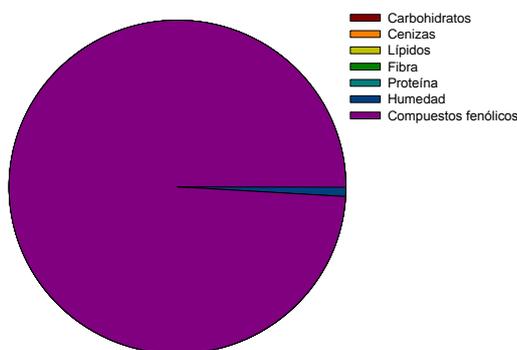


Figura 2: Composición centesimal de la harina de semilla de cajá

Los valores obtenidos en este trabajo se asemejan, pero no coinciden, con lo informado por otros autores ^[7], cuyo material resultó más húmedo (9,7 %) y con menor contenido de ceniza (1,96 %). Las diferencias encontradas pueden atribuirse a las condiciones de cultivo de la planta así como al proceso de secado de las semillas. Por otra parte, se destaca el elevado contenido de fibra y carbohidratos en la harina, de acuerdo con lo reportado por Kamel & Kakuda ^[8] para el carozo de ciruela (*P. domestica* L.) y de durazno (*P. pérsica* L.).

Debido a que las semillas de las frutas pueden contener compuestos fenólicos con actividad antioxidante, se realizaron extractos de la harina utilizando solventes de distinta polaridad en una relación solvente/muestra de 100. Se evaluó la extracción utilizando mezclas de agua-etanol y agua-acetona en dos proporciones (50:50 y 70:30) para extraer, cuantificar e identificar los polifenoles. Debido a que la capacidad de extracción se incrementó a medida que disminuyó la constante dieléctrica de las mezclas, las mezclas de agua-acetona en una relación 50:50 proporcionaron la mayor extracción.

La concentración de fenólicos totales se determinó mediante el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu calibrando con ácido gálico, lo que permitió cuantificar a los polifenoles extraídos, que equivalen a $1,2 \pm 0,3$ g de ácido gálico/100 g de harina. Se infiere que los polifenoles se encuentran en mayor proporción en la semilla cuando se compara con datos disponibles de la pulpa o la cáscara de la fruta, reportados en artículos previos. Se informó que el contenido de flavonoides totales en dichas matrices fue de hasta 0,9 g de ácido gálico por cada 100 g de muestra seca ^[9].

Para identificar los polifenoles se realizó una cromatografía líquida de alta eficiencia isocrática usando una columna C18 de 25 cm y ácido acético 1% - acetonitrilo como fase móvil, usando ácido gálico, catequina, ácido vanílico, ácido siríngico, vanilina, quercetina y eugenol como patrones. Fue posible identificar, de acuerdo a los tiempos de retención (t_R) de compuestos patrón, la presencia de catequina ($t_R = 11,150$) y de ácido vanilínico o de ácido siríngico ($t_R = 11,683$). Por otra parte, no se detectó la presencia de los siguientes compuestos: ácido gálico, furfural, vainillina, quercetina ni eugenol.

Se determinó la capacidad antioxidante de estos extractos mediante el método de captura del radical difenilpicrilhidrazilo (DPPH) usando ácido-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox) como estándar ^[10]. En las condiciones ensayadas, la muestra produjo en promedio una reducción del 34 % de la absorbancia del radical lo que resultó equivalente a una concentración de Trolox (mM) de $1,0 \pm 0,1$. De acuerdo a las concentraciones utilizadas para la determinación, se calculó que 100 g de harina contiene una actividad antioxidante equivalente a 10 mmol de Trolox. Estos valores resultan un orden de magnitud superiores a los reportados para la mayoría de las frutas tropicales siendo únicamente comparables a los obtenidos para el maracujá ^[11].

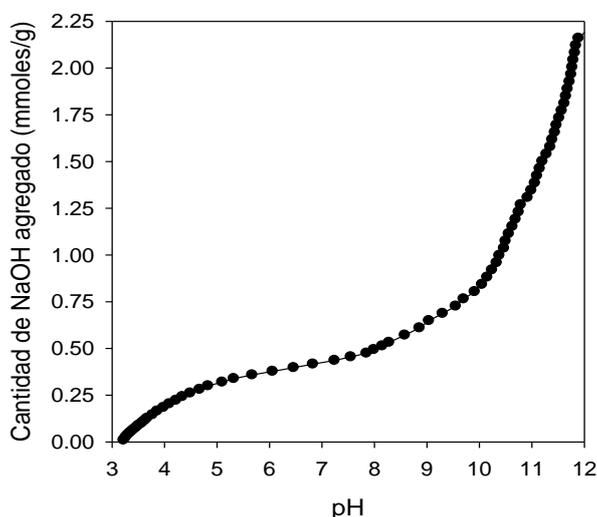


Figura 3: Titulación potenciométrica de una dispersión acuosa de harina de cajá al 3 %

Finalmente, se estudió el comportamiento ácido-base de la harina mediante titulación potenciométrica con NaOH valorado (Figura 3). Se encontró que los grupos ionizables poseen valores de pKa por encima de 7 o por debajo de 3 y que en el rango de pH entre 3 y 7 no habría grupos que liberen protones ya que se observa un marcado incremento del pH cuando se adicionan pequeñas cantidades de álcali. Esta información podría resultar de utilidad en la regulación de la acidez en el caso de que se desarrolle una formulación incorporando la harina de semilla de cajá como ingrediente.

Se concluye que la harina de semillas de cajá podría incorporarse en alimentos principalmente como fuente de fibra, aportando también polifenoles con capacidad antioxidante y pequeñas cantidades de proteína.

Parte 2: Yerba mate

Introducción

El mate es una de las bebidas más populares de nuestro país y se elabora como una infusión a partir de la yerba mate (*Ilex paraguariensis*)^[12]. Esta infusión se consume en taza (mate cocido) o en un recipiente denominado mate y con la ayuda de una bombilla (mate de bombilla). Existen diversas empresas que comercializan distintos tipos y marcas de yerba mate que se diferencian en sus atributos sensoriales y propiedades fisicoquímicas. Santa Cruz y col.^[13] han reportado descriptores y referencias apropiados para la evaluación sensorial de la apariencia de la yerba así como de la apariencia, sabor y olor del mate cocido, sin embargo aún no se han definido los descriptores para el mate de bombilla. Es por esto que resulta de interés establecer una correlación de los atributos sensoriales con datos fisicoquímicos fácilmente determinables. El objetivo del trabajo fue determinar parámetros fisicoquímicos de muestras de yerba mate de distintas marcas comerciales que resulten de utilidad para su correlación con atributos sensoriales.

Experimental

Se trabajó con tres paquetes de 500 g de yerba de cada una de 6 marcas comerciales, cada marca se denominó con una letra, de la A a la F (Figura 4).



Figura 4: Imágenes de cada uno de los tipos de yerba mate analizados

Los parámetros determinados para las muestras de yerba mate sólida (MS) fueron: humedad, color (L^* , a^* y b^*), densidad aparente y capacidad de retención de agua (CRA). Además, se fraccionó cada muestra mediante tamizado en tres fracciones: gruesa, media y fina.

La densidad aparente, determinada como la masa de MS que ocupa un determinado volumen de yerba (Figura 5) varió entre 0,25 y 0,35 g/mL con escasa variabilidad entre distintas muestras de la misma marca. La CRA de las MS se determinó por incubación de 10 g de yerba con 100 mL de agua a 80°C durante 45 min, filtración y determinación de la masa de la yerba húmeda. Los valores de CRA variaron entre 2,3 y 4,0 g de agua/g yerba. Se encontró una correlación positiva entre la densidad aparente y la humedad de las yerbas y una correlación negativa de estos parámetros con la CRA de las yerbas (Figura 6).



Figura 5: Imagen de la metodología empleada para la determinación de la densidad aparente

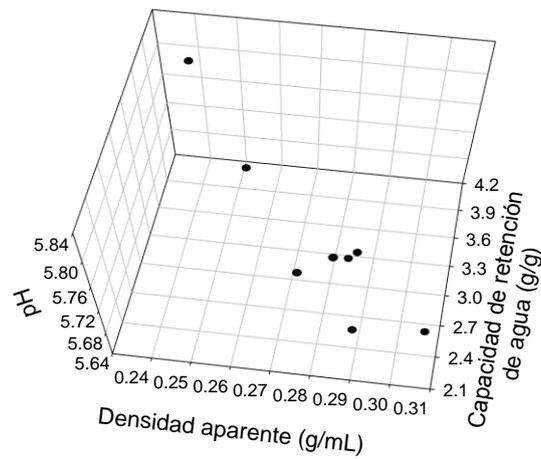


Figura 6: Evaluación de la correlación entre propiedades fisicoquímicas de las muestras. Los parámetros de color de cada muestra (Tabla 1) se determinaron por análisis digital de imágenes.

Tabla 1: Parámetros de color de las muestras de yerba mate

Muestra	L*	a*	b*
A	97,9 ± 0,2	0,65 ± 0,01	1,63 ± 0,02
B	98,10 ± 0,04	0,62 ± 0,02	1,50 ± 0,07
C	98,32 ± 0,01	0,63 ± 0,01	1,36 ± 0,07
D	98,0 ± 0,5	0,616 ± 0,007	1,45 ± 0,01
E	97,64 ± 0,08	0,59 ± 0,03	1,39 ± 0,06
F	97,54 ± 0,06	0,62 ± 0,02	1,4 ± 0,1

Además, se prepararon extractos acuosos (EA), similares al mate cocido, de la yerba mate al 3 % por incubación a 80 °C durante 15 min y posterior filtración en caliente. Se midió el pH de cada extracto y se obtuvo el espectro en el rango visible. El pH de los EA varió entre 5,68 y 5,81, de acuerdo a la característica levemente ácida del mate.

Los espectros de absorbancia en el rango visible (Figura 7) presentaron un perfil que puede explicarse considerando la contribución de la turbidez del sistema (entre 400 y 500 nm) así como la de los compuestos coloreados (entre 500 y 700 nm). La mayor diferencia entre los espectros de los EA provenientes de las distintas marcas se observó entre 660 y 680 nm.

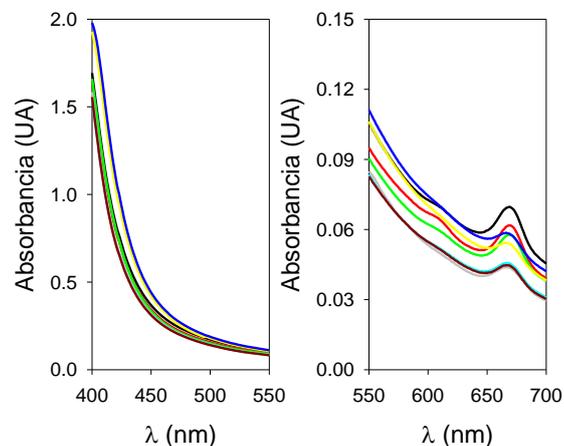


Figura 7: Espectros de absorbancia en el rango visible de los extractos acuosos de yerba mate al 3 %.

El mate de bombilla se prepara colocando una cantidad de yerba mate en un recipiente denominado mate y se consume luego de adicionar una pequeña cantidad de agua caliente a la yerba aspirando con la boca a través de la bombilla. Estos últimos pasos se repiten hasta que el mate pierde gran parte de su sabor o “se lava”. Se realizaron ensayos de lixiviación de la siguiente manera (Figura 8): en un equipo para filtrar al vacío se colocaron 30 g de yerba, se adicionaron 40 mL de agua a 80 °C, se incubó durante 1 minutos y se filtró. Se repitió la operación 15 veces, para simular el proceso de cebado. Se recuperó el líquido y se realizaron espectros en el rango visible (Figura 9).



Figura 8: Imagen de la metodología empleada para el estudio de la lixiviación

Se encontró un decaimiento exponencial de las señales obtenidas en función del volumen de agua utilizado y se determinaron las constantes de decaimiento. En todos los casos se observó que luego de 10 “cebadas”, el rendimiento del proceso lixiviado se había reducido significativamente ya que la cantidad de compuestos que se extraían era menor al 10 % de los que se extraían en la primera cebada. Sin embargo, se encontraron diferencias entre las distintas marcas de las yerbas ensayadas. Las muestras de yerba con mayor contenido de polvo o fracción fina (alrededor del 8%) fueron aquellas que presentaron un mayor rendimiento en la lixiviación inicial. Por el contrario, las muestras de yerba conteniendo mayor proporción de fracción media fueron aquellas que “se lavaron” antes (alrededor de la sexta adición de agua). Las muestras a partir de las cuales el rendimiento de la lixiviación resultó menor fueron aquellas que cuya fracción media era superior. Esto se explicó debido a que esta fracción correspondía principalmente al palo triturado y no a las hojas, dato que se obtuvo mediante el análisis digital del color.

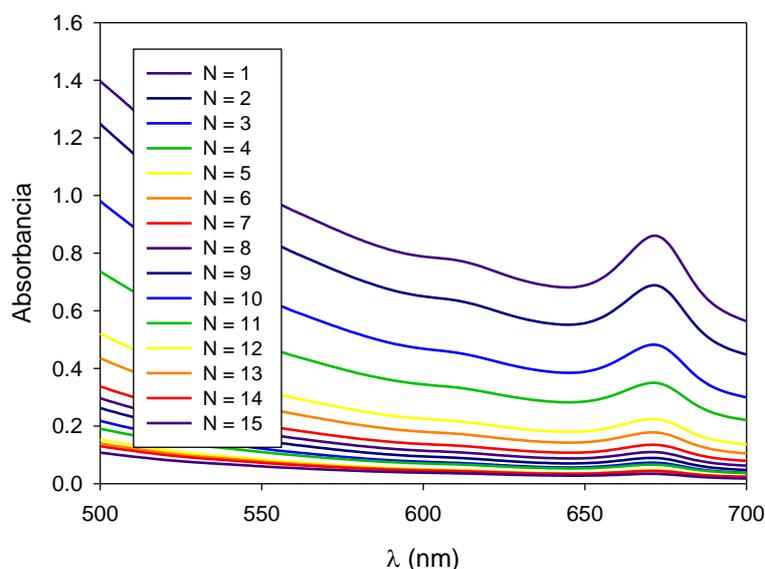


Figura 9: Espectros en el rango visible de los extractos obtenidos durante el proceso de lixiviación de una muestra de yerba (E2).

Se concluye que los parámetros fisicoquímicos determinados mediante técnicas muy sencillas podrían permitir, por un lado, clasificar distintas muestras de yerba mate y, por otro lado, correlacionarse con atributos sensoriales.

Parte 3: Bagazo cervecero

El proceso de elaboración de cerveza genera mayoritariamente dos subproductos: el bagazo y la levadura. Si bien la composición del bagazo cervecero es variable dependiendo tanto de la materia prima como del proceso, se destaca en su composición un elevado contenido de humedad, fibra y proteína^[14]. Es por esto que se ha ensayado en diversas formulaciones para la elaboración de alimento para animales^[15]. En cuanto a su incorporación como ingrediente en productos destinados a alimentación humana se ha adicionado sobre todo en productos panificados. Se encontró que incrementa satisfactoriamente el contenido de fibra y proteína de los mismos pero que afecta negativamente la calidad panadera, reduciendo el volumen y la elasticidad e incrementando la dureza^[16]. Se realizaron algunos ensayos de incorporación de bagazo tratado enzimáticamente y se encontró que dicho tratamiento compensa parcialmente el efecto negativo de la adición de bagazo a los productos^[17]. Por otro lado, se ha utilizado como sustrato para el cultivo de microorganismos, combinado o no con otros sustratos^[18]. Sin embargo, aún no se ha ensayado la incorporación de bagazo a otro tipo de productos (cárnicos o alimentos húmedos semisólidos, por ejemplo) ni se ha ensayado un proceso de fermentación del bagazo previo a su incorporación en alimentos. Adicionalmente, no se ha encontrado un estudio comparativo de las condiciones de almacenamiento y estabilidad del bagazo cervecero por lo que es aún un campo por explorar.

Conclusiones y perspectivas

De acuerdo con el objetivo del proyecto, se inició el estudio de dos materiales vegetales. En el caso de las semillas de cajá se realizó una caracterización inicial que permitirá, junto con la información funcional que se obtenga posteriormente, evaluar la factibilidad de su incorporación en formulaciones alimenticias.

Por otro lado, se estudiaron distintos parámetros de la yerba mate, así como de sus infusiones. La continuación de este trabajo permitirá, mediante análisis estadístico, la correlación de los parámetros determinados con los datos de la evaluación sensorial de cada una de las muestras.

Por último, se propone evaluar alternativas para el aprovechamiento del bagazo cervecero, particularmente formando parte de formulaciones alimentarias.

Bibliografía

1. Esua, O., et al., *Antioxidant potential, phytochemical and nutrient compositions of Nigerian hog plum (Spondias mombin) seed kernel as a new food source*. International Food Research Journal, 2016. **23**: p. S179.
2. Rocha, J.d.C., *Produção, avaliação da estabilidade e aplicação de enzimas pectinolíticas de Aspergillus niger IOC 4003 utilizando resíduos de frutas tropicais como substrato*. 2018, Brasil.
3. Tiburski, J.H., et al., *Nutritional properties of yellow mombin (Spondias mombin L.) pulp*. Food Research International, 2011. **44**(7): p. 2326-2331.
4. López, D.N., et al., *Effects of extraction pH of chia protein isolates on functional properties*. LWT, 2018. **97**: p. 523-529.
5. Ramírez-Rivera, J., et al., *Caracterización fisicoquímica, funcional y contenido fenólico de harina de malanga (Colocasia esculenta) cultivada en la región de Tuxtepec, Oaxaca, México*. Ciencia y Mar, 2011. **15**(43): p. 37-47.
6. Int, A., *Official methods of analysis*. AOAC International, 2007.
7. Brito, M.J.P., et al., *Activated carbons preparation from yellow mombin fruit stones for lipase immobilization*. Fuel Processing Technology, 2017. **156**: p. 421-428.
8. Kamel, B. and Y. Kakuda, *Characterization of the seed oil and meal from apricot, cherry, nectarine, peach and plum*. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1992. **69**(5): p. 492-494.
9. Fadimu, O., O. Idowu, and S. Ipinlaye, *Studies on the dormancy and germination of stony fruits of hog plum (Spondias mombin) in response to different pre-soaking seed treatments*. International Research Journal of Biological Sciences, 2014. **3**(6): p. 57-62.
10. Spagna, G., et al., *Chemical analysis and photoprotective effect of an extract of wine from Jacquez grapes*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2002. **82**(15): p. 1867-1874.

11. Contreras-Calderón, J., et al., *Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia*. Food Research International, 2011. **44**(7): p. 2047-2053.
12. Heck, C.I. and E.G. De Mejia, *Yerba Mate Tea (Ilex paraguariensis): a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations*. Journal of food science, 2007. **72**(9): p. R138-R151.
13. Santa Cruz, M., L. Garitta, and G. Hough, *Sensory descriptive analysis of yerba mate (Ilex paraguariensis Saint Hilaire), a South American beverage*. Food science and technology international, 2002. **8**(1): p. 25-31.
14. Mussatto, S.I., G. Dragone, and I.C. Roberto, *Brewers' spent grain: generation, characteristics and potential applications*. Journal of cereal science, 2006. **43**(1): p. 1-14.
15. Ferro, M.M., et al., *Barley and its by-products in animal nutrition*. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, 2017. **18**(12): p. 1-11.
16. Cabrera, P.L.A., et al., *Bagazo de cervecería como ingrediente en el desarrollo de panificados. Impacto del rotulado en la intención de compra y aceptabilidad*. Innotec, 2018(16 jul-dic): p. 40-46.
17. Stojceska, V. and P. Ainsworth, *The effect of different enzymes on the quality of high-fibre enriched brewer's spent grain breads*. Food chemistry, 2008. **110**(4): p. 865-872.
18. de Castro, R.J.S. and H.H. Sato, *Enzyme production by solid state fermentation: general aspects and an analysis of the physicochemical characteristics of substrates for agro-industrial wastes valorization*. Waste and biomass valorization, 2015. **6**(6): p. 1085-1093

Empleo de la probabilidad DP4+ en la asignación de configuración relativa y absoluta de compuestos orgánicos complejos

Zanardi, María Marta[†]; Sarotti, Ariel Marcelo[‡].

[†]Facultad de Química e Ingeniería del Rosario, Pontificia Universidad Católica Argentina, Av. Pellegrini 3314, (S2002QEO) Rosario, Argentina.

[‡] Instituto de Química Rosario (CONICET), Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Suipacha 531, Rosario 2000, Argentina

Resumen.

Actualmente la Resonancia Magnética Nuclear constituye una de las herramientas más poderosas para la elucidación estructural de nuevas moléculas orgánicas complejas. A pesar de los enormes avances en la disciplina la determinación de la estructura tridimensional de nuevos compuestos de modo exclusivamente experimental es muchas veces extremadamente difícil o imposible; lo que conlleva frecuentemente a la publicación de estructuras erróneas. La química computacional, ha contribuido enormemente a prevenir estas situaciones, mediante la construcción de distintas herramientas de correlación de datos experimentales con cálculos cuánticos, las cuales permiten reforzar la confianza en la asignación estereoquímica de nuevos productos tanto naturales como sintéticos. Entre ellas se destaca la probabilidad que hemos desarrollado denominada DP4+. Este sofisticado enfoque presentó una performance muy superior a su predecesor DP4 mediante la variación en el nivel de teoría empleado y la inclusión de datos no escalados. A fin de demostrar la utilidad de la mencionada herramienta nos propusimos evaluar su performance en dos casos. En primer lugar se evaluó en la determinación de la configuración relativa de espiroepóxidos y epóxidos terminales (compuestos que son prácticamente imposibles de determinar de modo experimental por RMN). Luego se empleó para determinar la configuración absoluta de diferentes tipos de compuestos a través de una estrategia de derivatización quiral y posterior análisis por DP4+.

Palabras Clave: Química computacional, RMN, Asignación estereoquímica, DP4+.

Abstract.

Currently, Nuclear Magnetic Resonance is one of the most powerful tools for the structural elucidation of new complex organic molecules. Despite the enormous advances in the discipline, the determination of the three-dimensional structure of new compounds exclusively in experimental way is often extremely difficult or impossible; which frequently leads to the publication of erroneous structures. Computational chemistry has contributed greatly to prevent these situations, through the construction of different tools for correlating experimental data with quantum calculations, which increase the confidence in the stereochemical assignment of new natural and synthetic products. Among them, the probability we have developed named DP4+ is highlighted. This sophisticated approach presented a superior performance respect to its predecessor DP4 through variation in the level of theory employed and the inclusion of non-scaled data. In order to demonstrate the usefulness of the mentioned tool, we set out to evaluate its performance in two cases. First, it was evaluated in the determination of the relative configuration of spiroepoxides and terminal epoxides (which are practically impossible to determine in an experimental way by NMR). Then it was employed in determining the absolute configuration of different types of compounds through a chiral derivatization strategy and subsequent DP4+ analysis.

Keyword: Computational chemistry, NMR, Stereochemical Assignment, DP4+.

Introducción

Con el advenimiento de la Mecánica Cuántica la ciencia química dejó de ser considerada como un campo experimental alejado de consideraciones matemáticas. De este modo surgió la química computacional como una disciplina con la capacidad de integrar áreas comúnmente separadas como la química, la física, la biología y la ciencia de la computación; permitiendo la investigación del comportamiento de la materia a nivel molecular mediante un sistema de ordenadores, con el potencial de ser una teoría predictiva.

El modelado molecular aplicado a la química orgánica permite establecer puntos de partida para trabajos sintéticos, determinar estructuras moleculares y mecanismos de reacción, estudiar especies muy reactivas que no pueden ser aisladas, interpretar y predecir datos experimentales, así como identificar correlaciones entre estructuras químicas y sus propiedades. La capacidad de realizar predicciones espectroscópicas de compuestos orgánicos, resulta sumamente importante para la elucidación estructural de nuevas moléculas complejas; una etapa fundamental (y muchas veces crítica) en el descubrimiento de nuevos compuestos activos, ya que su estructura tridimensional se encuentra fuertemente ligada con sus propiedades químicas, físicas y biológicas. En los últimos años hemos realizado importantes avances en el empleo de cálculos de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) en combinación con redes neuronales y métodos estadísticos para validación estructural¹ y asignación estereoquímica² respectivamente, Figura 1.

¹- Zanardi, M. M.; Sarotti, A. M. *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 9371.

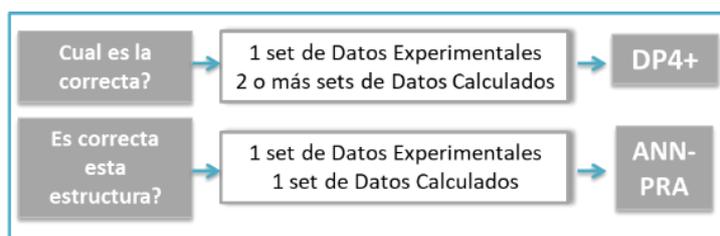


Figura 1: Representación esquemática de las herramientas desarrolladas para elucidación estructural

Para validación estructural, es decir determinar si la estructura propuesta es correcta o no, desarrollamos un método rápido, sencillo y confiable, que mediante la utilización de cálculos de RMN bidimensionales combinado con reconocimiento de patrones vía redes neuronales artificiales (ANN-PRA, *Artificial Neural Network-Pattern Recognition Analysis*), permite comparar único *set* de datos experimentales con un *set* de datos calculados.¹

Otro importante avance realizado en esta línea de investigación fue el desarrollo de una probabilidad DP4 mejorada, empleando 24 niveles de teoría, la cual hemos denominado DP4+.² Ésta permite correlacionar dos o más estructuras candidatas a un sólo *set* de datos experimentales asignando a cada una su probabilidad (*i* tiene más chance que *j* de ser la estructura correcta). DP4+ mostró un incremento notable en su performance respecto a la formulación original debido fundamentalmente al nivel de teoría empleado en los cálculos y la introducción de datos no escalados.²

Brevemente, la asignación estereoquímica realizada tiene su origen en la distribución estadística de errores entre los datos experimentales y calculados para los distintos estereoisómeros, *e* (definidos como $\delta_{calc} - \delta_{exp}$). La probabilidad DP4+ se sustenta sobre la base que los errores escalados ($\delta_s - \delta_{exp}$) son variables aleatorias normalmente distribuidas (en realidad, ajustan mejor a una distribución *t*), y que cuando se emplean δ no escalados hay una distribución *t* para núcleos sp^2 y otra para sp^3 (Figura 2).

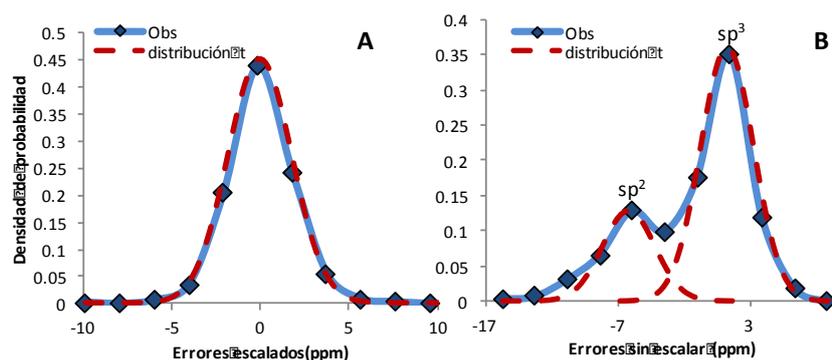


Figura 2: Distribución de errores escalados y no escalados

Luego, la probabilidad asociada al *i*-ésimo error puede calcularse conociendo los parámetros [μ, σ, ν] que definen dichas distribuciones. La probabilidad global correspondiente a cada isómero se construye multiplicando todas las probabilidades individuales, y empleando el Teorema de Bayes, se asigna un valor porcentual a cada candidato (Eq. 1).²

$$\begin{aligned}
 & \text{DP4+} \\
 & P(i) = P(i)_s \cdot P(i)_u \quad \text{Eq. 1} \\
 & \uparrow \text{sDP4+} \\
 & P(i)_s = \frac{\prod_{k=1}^N (1 - T^v_s(\delta^j_{s,k} - \delta_{exp,k})/\sigma_s)}{\sum_{j=1}^m \left[\prod_{k=1}^N (1 - T^v_s(\delta^j_{s,k} - \delta_{exp,k})/\sigma_s) \right]} \\
 & \uparrow \text{uDP4+} \\
 & P(i)_u = \frac{\prod_{k=1}^N (1 - T^v_u(\delta^j_{u,k} - \delta_{exp,k}) - \mu_u)/\sigma_u)}{\sum_{j=1}^m \left[\prod_{k=1}^N (1 - T^v_u(\delta^j_{u,k} - \delta_{exp,k}) - \mu_u)/\sigma_u \right]} \\
 & T^v, \sigma, \mu, \text{ y } \delta_s \text{ calculados sobre geometrías B3LYP/6-31G*
 \end{aligned}$$

Según el nivel de teoría empleado para el cálculo de los tensores magnéticos los parámetros estadísticos se ven

² -Grimblat, N.; Zanardi, M. M.; Sarotti, A. M. *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 12526.

afectados y de este modo varía la capacidad predictiva de DP4+. Para demostrar su gran capacidad en la asignación estereoquímica se decidió evaluar su performance en casos muy desafiantes, empleando el nivel de teoría que mejores resultados arrojó durante la etapa de validación del desarrollo. De los 24 niveles analizados para DP4+, se decidió emplear la optimización de la geometría a nivel B3LYP/6-31G* y el cálculo de RMN a nivel PCM/mPW1PW91/6-31+G** empleando cloroformo como solvente.

Se tomaron como objeto de estudio moléculas muy complejas de asignar experimentalmente y para las cuales la probabilidad DP4 original fallaba, como es el caso de los espiroepóxidos y epóxidos terminales. En la Figura 3 se muestran los resultados comparativos de espiroepóxidos exponiendo la inexactitud que presentaba DP4 original en estos casos y como estos errores fueron subsanados por la nueva probabilidad DP4+.³

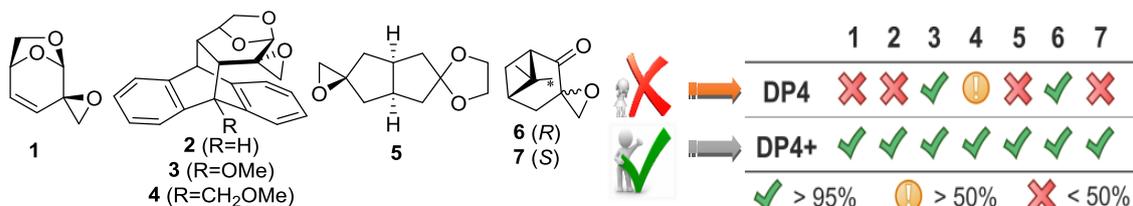


Figura 3. Siete ejemplos de espiroepóxidos usados en la evaluación de la probabilidad DP4+ vs DP4 original.

Típicamente la asignación estereoquímica de moléculas quirales por RMN se realiza mediante experimentos de NOE (*Nuclear Overhauser Effect*). Estos consisten en la transferencia de la polarización de espín nuclear de una población de espines a otra, vía relajación nuclear cruzada. A diferencia del acoplamiento espín-espín, el cual ocurre a través de enlaces químicos, el NOE ocurre a través del espacio. De este modo, átomos próximos en el espacio pueden dar una señal, mientras que el acoplamiento de espín solo es observado cuando los átomos están conectados por 2-3 enlaces químicos. Las distancias interatómicas derivadas del NOE a menudo ayudan a confirmar la estructura tridimensional de una molécula. Sin embargo, en numerosas ocasiones estos típicos experimentos empleados para determinar configuraciones relativas de compuestos orgánicos llevan a resultados ambiguos donde no hay diferencias en los resultados que pudieran obtenerse para distintos diastereoisómeros, como es el caso de los epóxidos de la Figura 4, donde las distancias interatómicas para ambos isómeros son las mismas. De este modo, surge la necesidad de contar con metodologías alternativas confiables para realizar asignación estereoquímica de compuestos quirales.

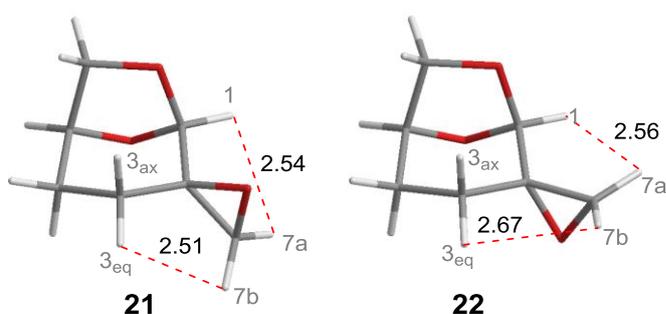


Figura 4. geometrías optimizadas a B3LYP/6-31G* para dos epóxidos diastereoisoméricos, indicando las distancias seleccionadas (en Å) de los núcleos involucrados en los experimentos NOE, mostrando que ambos isómeros dan lugar a iguales resultados.

Alternativamente cuando la configuración relativa de los compuestos no puede ser asignada sobre la base de experimentos de RMN, debe recurrirse a la cristalización y resolución de la estructura mediante difracción de rayos X, con la limitación que no todas las sustancias pueden ser adecuadamente cristalizadas.

Con el objetivo de determinar si DP4+ podía ser aplicada como una metodología general en casos de este tipo, se evaluó su performance en varios ejemplos de espiroepóxidos y epóxidos terminales con una amplia diversidad en complejidad molecular y libertad conformacional. Luego de una exhaustiva búsqueda bibliográfica, se modelaron más de 30 compuestos conteniendo estas funcionalidades y los respectivos epímeros en el centro estereogénico correspondiente al anillo oxirano. Los compuestos y sus resultados se muestran en la Figura 5.

³ -Zanardi, M. M.; Suarez, A. G.; Sarotti, A. M. *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 1873.

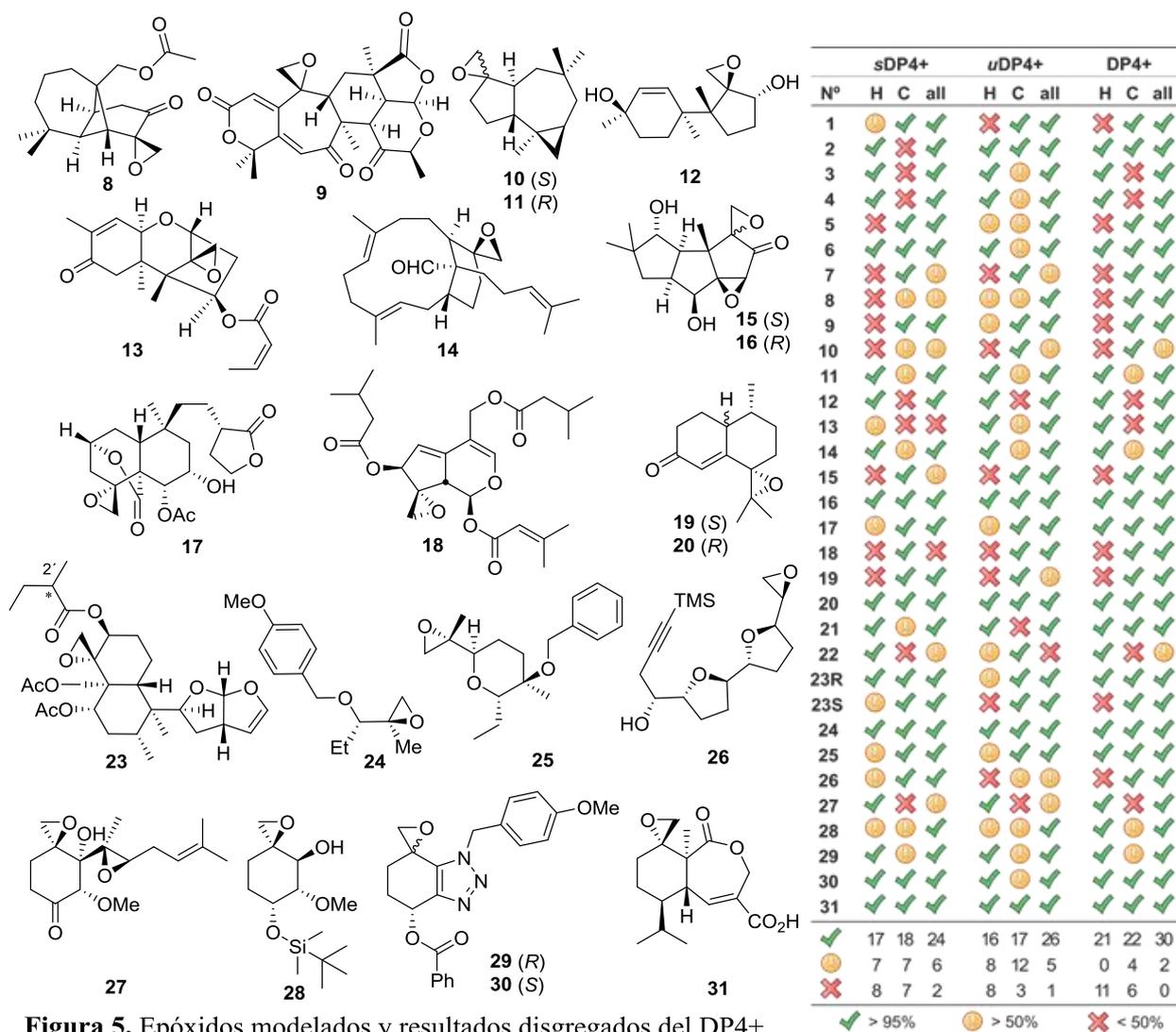


Figura 5. Epóxidos modelados y resultados disgregados del DP4+.

Los excelentes niveles de clasificación correcta logrados se interpretaron sobre la base de una compensación constructiva de los errores observados cuando se utilizan tanto los desplazamientos de ^1H y de ^{13}C escalados como los no escalados. Por lo tanto, para reforzar la confianza en la asignación, se concluyó que ambos tipos de datos deben ser empleados en el procedimiento de cálculo de DP4+. Utilizada correctamente, la metodología DP4+ surge como una alternativa poderosa y simple para asignar la configuración relativa de epóxidos desafiantes a partir de los cuales la información de RMN experimental proporciona resultados ambiguos.

Los ejemplos considerados fueron correctamente asignados con muy buenos resultados, sin embargo, tienen dos ventajas que permiten a DP4+ dar una buena respuesta, por un lado son moléculas de baja flexibilidad en torno al centro estereogénico que se desea asignar, y por otro sus espectros de RMN fueron adquiridos empleando cloroformo deuterado (solvente en el cual se realizaron los cálculos de los tensores magnéticos al nivel de teoría óptimo). En este escenario nos enfrentamos a dos desafíos evaluar la performance de DP4+ en moléculas más flexibles y su comportamiento en sistemas altamente polares (como poli alcoholes) cuyos espectros deben ser registrados en solventes próticos deuterados.

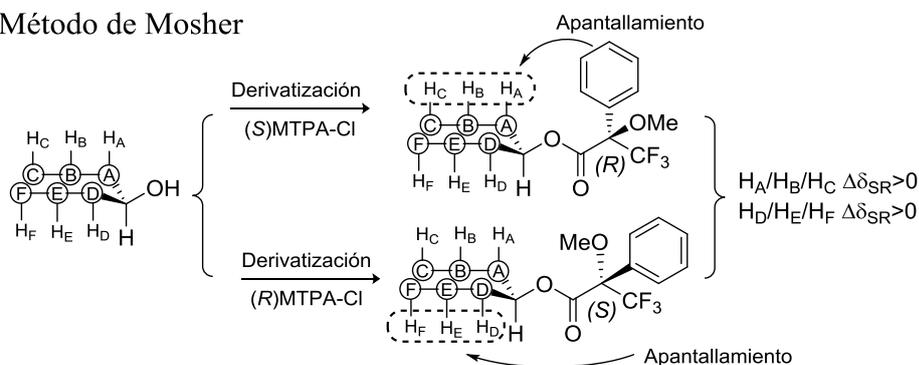
Con el objetivo de abordar el primer tópico, se intentó continuar con el proceso de asistencia a la elucidación estructural, ya que una vez establecidas las configuraciones relativas de todos los estereocentros presentes en una molécula el siguiente paso es establecer la configuración absoluta (CA). Esta determinación es muy importante debido a que ambos enantiómeros de compuestos bioactivos pueden tener propiedades biológicas sustancialmente diferentes, debido a que sus blancos de acción son, en general, proteínas o enzimas intrínsecamente quirales. De ahí, la creciente necesidad de obtener productos químicos enantioméricamente puros, lo cual llevó a un extenso desarrollo en áreas como la síntesis asimétrica y otros procesos para los cuales la disponibilidad de métodos confiables y simples de determinación de la pureza enantiomérica y de la configuración absoluta es de suma importancia.

Debido a lo desafiante de determinar la CA, actualmente, hay varios métodos disponibles para realizarlo, incluidos análisis de cristalografía de rayos X, espectroscopia quirópática, síntesis química y análisis de RMN. Curiosamente, todos ellos adolecen de imprecisiones que pueden conducir a una asignación errónea, por lo que la determinación de CA pequeñas moléculas sigue siendo un área ferviente de investigación.

Entre los diferentes enfoques basados en la espectroscopia de RMN, aquellos que involucran el empleo de agentes de derivatización quiral (CDA-por sus siglas en inglés *Chiral Derivatizing Agent*) son quizás los más populares.⁴ Se han descrito una amplia variedad de métodos, y en todos los casos, la estrategia implica la formación de un enlace covalente entre el CDA y el sustrato. Las ventajas de estas metodologías son varias: en primer lugar el equipamiento necesario para llevar a cabo la determinación se emplea de forma rutinaria en los laboratorios de síntesis orgánica; sólo requiere una pequeña cantidad de muestra y los experimentos son llevados a cabo en solución por lo cual es aplicable tanto para compuestos sólidos como líquidos.

Uno de los métodos más conocidos de este tipo es el desarrollado por Mosher (Figura 6).⁴ Este consiste en la derivatización de alcoholes con ácidos carboxílicos quirales (como el ácido α -metoxi- α -trifluorometil- α -fenilacético-MTPA); obteniendo los ésteres diastereoisoméricos cuyas diferencias en los espectros de RMN son características para cada configuración. Los derivatizantes tienen un mecanismo predecible que causa la protección diferencial producida por un grupo aromático responsable de la discriminación entre las dos configuraciones. Luego es necesario analizar y comprender qué conformación adoptan preferencialmente los derivados.⁵ Estos modelos tienden a funcionar muy bien para alcoholes secundarios y algunas aminas, y en menor magnitud, para alcoholes primarios β -quirales.

Figura 6: Método de Mosher



Alternativamente al reactivo empleado por Mosher se han descrito diversos agentes de derivatización quiral según el tipo de funcionalidad presente en el compuesto a analizar.⁶ Comúnmente, se efectúan dos derivatizaciones empleando los enantiómeros (*R*) y (*S*) del reactivo quiral, se registran ambos espectros y luego se calculan los $\Delta\delta$ de los núcleos del sustrato que rodean el centro estereogénico derivatizado (valores $\Delta\delta_{RS}$). Dependiendo de la magnitud y el signo de los valores $\Delta\delta_{RS}$ para los diferentes grupos sustituyentes del sustrato, la CA puede determinarse siguiendo un modelo conformacional dado, que depende de la naturaleza del sustrato y del CDA utilizado (Figura 7).

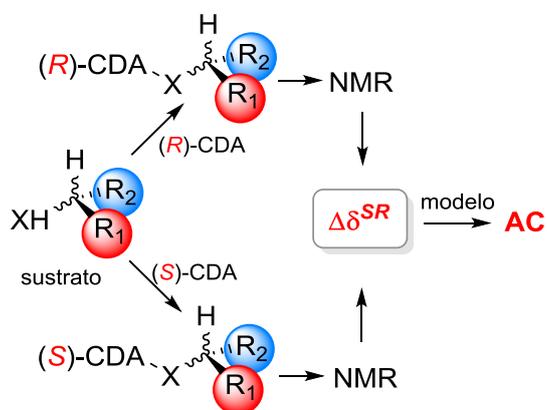


Figura 7. Representación esquemática de la determinación de la CA por RMN siguiendo un enfoque de doble derivatización.

⁴ -A.; Mosher, H. S. *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 2143-2147.

⁵ -Wenzel, T. J. and Chisholm, C. D. *Chirality* **2011**, *23*, 190-214.

⁶ -(a) Seco, J. M.; Quinoá, E.; Riguera, R. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 17-118. (b) Seco, J. M.; Quinoá, E.; Riguera, R. *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 4603-4641.

Experimentalmente, es necesario: en primer lugar determinar el CDA más adecuado para el tipo de funcionalización que contiene el compuesto; adicionalmente se deben realizar dos reacciones (una con cada enantiómero del CDA) o alternativamente por simple derivatización modificando el equilibrio conformacional mediante temperatura o formación de complejos con metales, con la consecuente disminución de sensibilidad lo cual reduce sustancialmente el nivel de confianza en la asignación. Finalmente se requiere también de un buen modelado molecular para analizar las posibles conformaciones de ambos distereoisómeros y la correlación con la teoría de análisis correspondiente al CDA empleado. La principal desventaja del método radica en que sólo permite determinar la configuración del estereocentro más próximo a la derivatización, requiriendo un análisis muy profundo de las configuraciones relativas de los otros centros que pudiera tener la molécula. Además, los valores de $\Delta\delta$ son muy pequeños, y si a eso se agrega un exhaustivo análisis de las conformaciones que justifiquen esas diferencias, esto puede producir ciertas ambigüedades que podrían conducir a resultados erróneos por una mala interpretación.

Dada la gran capacidad de DP4+ en la asignación estereoquímica de compuestos con múltiples estereocentros en un solo paso, nos propusimos emplearlo para poder establecer la configuración absoluta de un compuesto determinando cuál de los dos diastereoisómeros se obtiene al derivatizarlo con un reactivo quiral. De este modo, podría establecerse la configuración absoluta de manera más simple mediante una única derivatización y sin requerir de un análisis minucioso plausible de malas interpretaciones. El principal desafío en este caso estaría dado por la libertad conformacional que se presenta en el entorno cercano al centro sujeto a derivatización. En los estudios previos (epóxidos por ejemplo) había una importante restricción en el entorno del carbono que diferenciaba los distereoisómeros. En estos casos por el contrario la derivatización conlleva la ganancia de libertad conformacional en torno al núcleo derivatizado.

Como alternativa a los análisis clásicos de los métodos tipo Mosher, propusimos una novedosa estrategia que consiste en resolver la CA más probable de los compuestos quirales mediante experimentos de simple derivatización, acoplados a cálculos cuánticos de los δ de RMN y el análisis de DP4+.

La metodología general consistió en hacer reaccionar algún grupo reactivo de la molécula (por ejemplo, OH, NH, COOH, etc) cuya configuración se desea determinar con un reactivo quiral, adquiriendo así un nuevo espectro de RMN que dependerá de la configuración del diastereoisómero obtenido. Luego se modelaron los dos posibles productos diastereoisoméricos manteniendo la configuración del CDA y variando la estructura proveniente del compuesto incógnita modelando ambos posibles enantiómeros. Sobre cada uno de los compuestos se efectuó una búsqueda conformacional a nivel de mecánica molecular, mediante un método de búsqueda sistemático en el cual se obtienen todas las posibles conformaciones dentro de las 10 Kcal de la más estable. Luego se optimizaron todas las conformaciones a nivel B3LYP/6-31G*, una vez removidos los duplicados se efectuó sobre las mismas los cálculos de RMN a nivel mPW1PW91/6-31+G** (PCM, Cloroformo). De este modo, se obtuvieron los tensores magnéticos ponderados según la distribución de Boltzman (hasta 2 Kcal de la conformación más estable). Con los datos experimentales y los tensores para ambos distereoisómeros se llevaron a cabo los cálculos de probabilidad empleando DP4+, permitiendo así determinar con una única derivatización la configuración de la molécula objetivo (Figura 8).

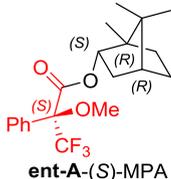
Datos de RMN exp. de:	Datos de RMN calculados para:	DP4+	Configuración más probable
 <p>A-(S)-MPA</p>	<p>A-(S)-MPA</p> <p>A-(R)-MPA</p> <p>ent-A-(S)-MPA</p>	<p>>99.9%</p> <p><0.1%</p>	<p>1(S),2(R),4(R)</p>
 <p>ent-A-(S)-MPA</p>	<p>1-(S)-MPA</p> <p>A-(R)-MPA</p> <p>ent-A-(S)-MPA</p>	<p><0.1%</p> <p>>99.9%</p>	<p>1(R),2(S),4(S)</p>

Figura 8. Representación esquemática del uso de DP4+ en la determinación de la configuración absoluta

Se seleccionó un conjunto de derivados de CDA de alcoholes secundarios y primarios, aminas primarias y secundarias, ácidos carboxílicos y cianhidrinas terciarias de diversa complejidad estructural y libertad conformacional. Respecto a la naturaleza del CDA, nuestra selección cubrió los más populares, incluyendo MTPA, MPA, MA, Ac-MA, 9-AMA y MBC (Figura 9).⁵

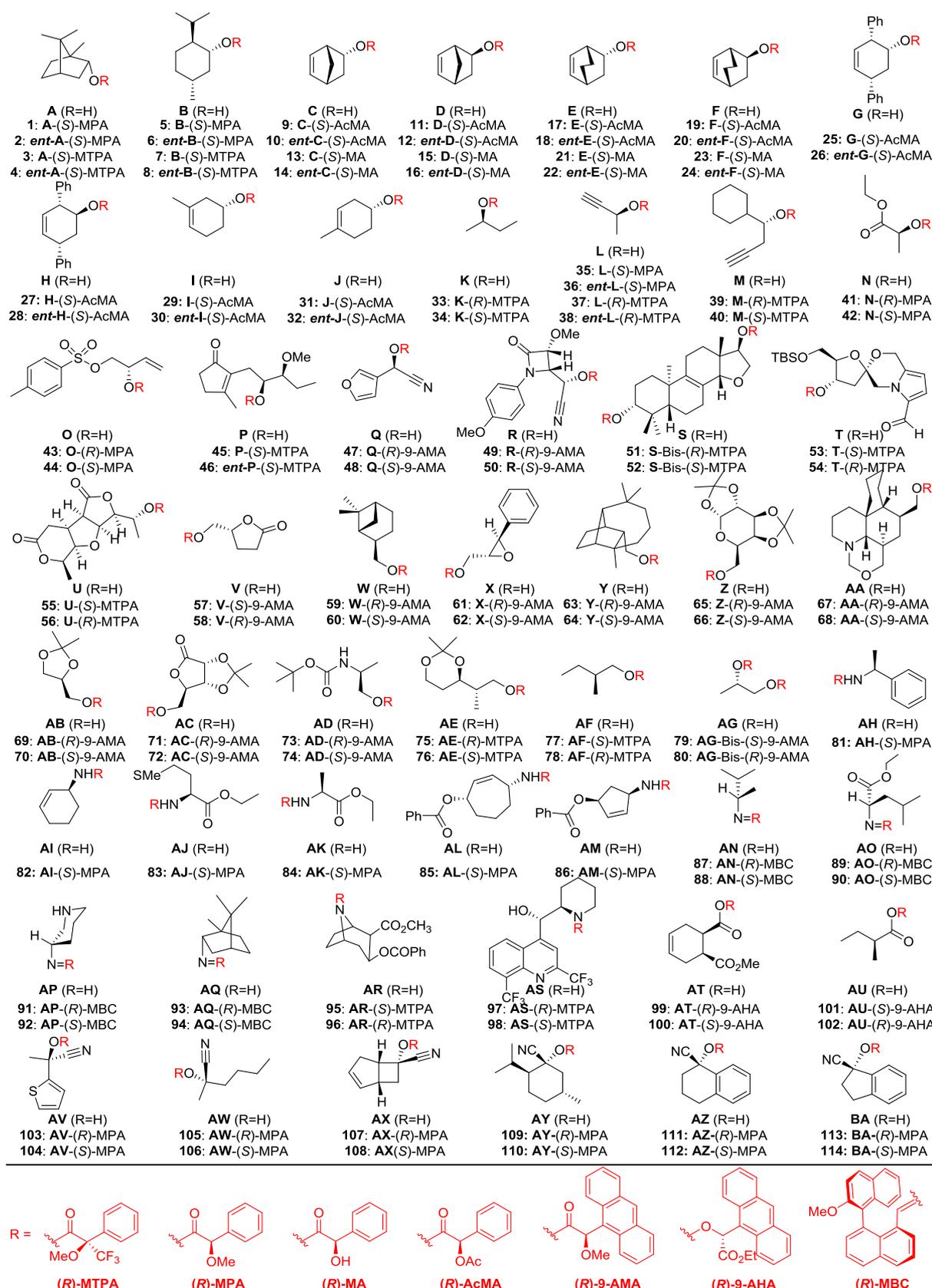
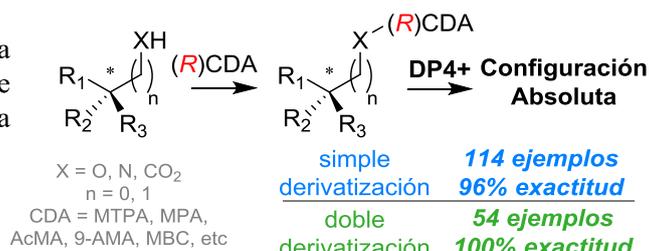


Figura 9. Estructuras de los compuestos evaluados 1-114.

Se modelaron 114 ejemplos, y se logró establecer correctamente la configuración absoluta de los sustratos en el 96% de los casos (Figura 10).

Figura 10. Metodología empleada la determinación de la CA y resultados obtenidos para ambos métodos DP4+ y DIP.



En un intento por incrementar el grado de confianza del uso de cálculos cuánticos para determinación de CA, se construyó una nueva probabilidad integrada DP4+ (DIP) para fortalecer el análisis cuando se dispone de los datos de RMN para ambos diastereoisómeros posibles. En el escenario más típico de una derivatización doble, los dos resultados independientes de DP4+ se pueden combinar en una sola probabilidad DIP (Figura 11).

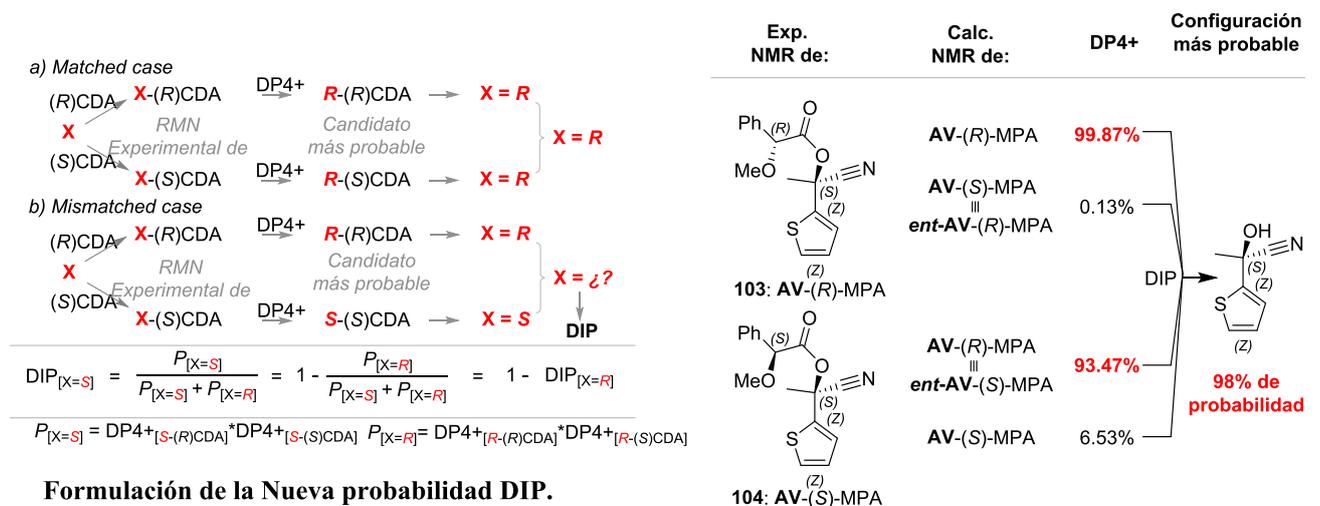


Figura 11. Representación esquemática del empleo de DP4+ en la determinación de la configuración absoluta a través de un enfoque de doble derivatización.

Cuando se calcularon las probabilidades DIP para los 54 pares de diastereoisómeros bajo estudio, fue muy satisfactorio observar que la configuración absoluta del sustrato se reprodujo correctamente en todos los casos, con valores de DIP que van desde 61% a > 99.9%. Además, en el 96% de los casos, la asignación se realizó con alta certeza (DIP > 80%), lo que indica la fortaleza del método cuando se sigue un enfoque de doble derivatización.

Finalmente, para demostrar la utilidad de nuestra metodología en la determinación de la configuración absoluta de productos naturales utilizando cálculos cuánticos de desplazamientos químicos de RMN, se presentarán y debatirán dos casos de estudio recientes y controversiales como fueron la (+)-*erythro*-mefloquina y la angiopterlactona B.⁷

1. (+)-*erythro*-mefloquina

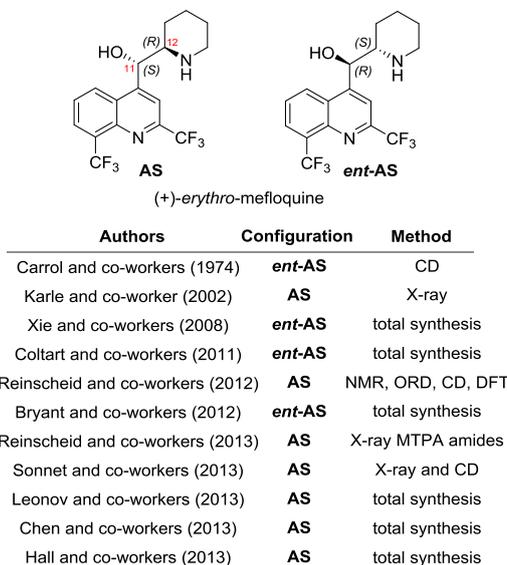
La síntesis total de un producto natural es sin duda la prueba definitiva de su identidad estructural y configuracional. Sin embargo, en algunos casos, la determinación de la configuración absoluta puede ser más compleja, como en el caso de (+)-*erythro*-mefloquina (compuesto AS, Figura 12)

Brevemente, Roche desarrolló la *rac-erythro*-mefloquina (conocida comercialmente con el nombre Lariam) en la década de 1970 empleada como agente antipalúdico. Uno de los principales problemas asociados con este medicamento es el efecto adverso neuropsiquiátrico generado por el enantiómero levorrotatorio. Dadas las fuertes diferencias exhibidas por los dos enantiómeros en términos de actividades farmacéuticas, varios investigadores intentaron determinar la configuración absoluta de la (+)-*erythro*-mefloquina (principio activo). Los resultados fueron, sin embargo, ambiguos y controvertidos. Carroll y col. primero sugirieron la configuración (11*R*, 12*S*) para el isómero dextrorrotatorio basado en dicroísmo circular (CD) y reglas empíricas (*ent-AS*, Figura 12), mientras que Karle estableció la misma configuración

⁷- Zanardi, M. M.; Biglione, F. A.; Sarotti, A. M. *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 11839.

para el isómero levorrotatorio utilizando una señal anómala de la difracción de rayos X de un mono cristal. La primera síntesis total de (+)-*eritro*-mefloquina por Xie y col. en 2008 apoyó la asignación de Carroll, pero un estudio más reciente de Griesinger, Reinscheid y col. mediante combinación de técnicas de RMN, ORD, CD y DFT sugirió que Karle tenía razón. Sin embargo, dos síntesis totales adicionales devolvieron la disputa al proponer la configuración (11*R*, 12*S*) para (+)-*eritro*-mefloquina. Para terminar con esta situación desconcertante, Reinscheid, Dittrich, Griesinger y sus colegas determinaron la configuración (11*S*, 12*R*) para el isómero (+) mediante análisis de rayos X de las amidas de MTPA resultantes de los dos enantiómeros de *eritro*-mefloquina. Pocos meses después, Sonnet y sus compañeros de trabajo llegaron a la misma conclusión por cristalografía de rayos X, espectroscopía de CD y modelado molecular.

Figura 12. Evolución temporal de la asignación de la CA de la (+)-*eritro*-mefloquina



Para entender cómo nuestra metodología podría haber sido útil en la resolución de este conflicto de 40 años, calculamos los δ de RMN de las dos amidas (*R*) y (*S*)-MTPA de (11*S*, 12*R*)-*eritro*-mefloquina (compuestos **97** y **98**, Figura 9). Para nuestro deleite, al correlacionarlos con los datos experimentales de RMN recopilados para el derivado (*R*)-MTPA, el isómero **97** (**AS**-(*R*)-MTPA) fue identificado como el más probable por cálculos de DP4+ (> 99.9%, Figura 13), lo que permite establecer la configuración 11*S*, 12*R* para el isómero dextrorrotatorio. La misma conclusión se logró al usar los δ experimentales de la amida (+)-*eritro*-mefloquina-(*S*)-MTPA, con el isómero **98** clasificado correctamente en alta confianza (98.5%). Por lo tanto, DP4+ podría predecir la configuración correcta de la *eritro*-mefloquina utilizando un enfoque de derivación simple, preparando los dos diastereoisómeros de MTPA. Naturalmente, utilizando los \square de RMN de las dos derivadas (derivación doble), los cálculos DIP predicen correctamente la configuración 11*S*, 12*R* en alta probabilidad (> 99.9%).

Experimental NMR from	Calculated NMR from	DP4+	Most likely configuration
(+)- <i>erythro</i> -mefloquine (<i>R</i>)-MTPA	AS -(<i>R</i>)-MTPA	>99.9%	AS (11 <i>S</i> ,12 <i>R</i>)
	AS -(<i>S</i>)-MTPA	<0.1%	
	ent-AS -(<i>R</i>)-MTPA		
(+)- <i>erythro</i> -mefloquine (<i>S</i>)-MTPA	AS -(<i>R</i>)-MTPA	1.5%	AS (11 <i>S</i> ,12 <i>R</i>)
	ent-AS -(<i>S</i>)-MTPA		
	AS -(<i>S</i>)-MTPA	98.5%	

Figura 13. DP4+ in the assignment of the absolute configuration of (+)-*erythro*-mefloquine

2- (+)-angiopterlactona B

Este complejo metabolito de bis-lactona fue aislado del rizoma de *Angiopteris caudatififormis* por Zou y col. en 2009. La estructura planar y la configuración relativa se determinaron mediante extensos estudios de RMN y Masa, y verificados por análisis de cristalografía de rayos X. Mediante métodos de Dicroísmo circular, los autores sugirieron las configuraciones 4*R* y 3'*R*, mientras que la configuración en C-6' se resolvió como *S* por el método Mosher modificado.

Por lo tanto, la configuración absoluta de (+)-angiopterlactona B se asignó como $4R,5S,6S,2'R,3'R,4'S,6'S$ (compuesto *ent*-U, Figura 14). Sin embargo, en 2017, Lawrence y colaboradores lograron la primera síntesis total de la estructura propuesta de (+)-angiopterlactona B y observaron que la muestra sintética mostraba un signo opuesto en la rotación óptica ($[\alpha]_D = -25$) que el reportado para el natural producto ($[\alpha]_D = +22$), lo que sugirió la necesidad de una revisión de la estructura originalmente propuesta. Pocos meses después, Bhattacharya y sus colegas llegaron independientemente a la misma conclusión a través de la síntesis de los dos enantiómeros de la angiopterlactona B, lo que demuestra que el isómero dextrorrotatorio natural tiene la configuración $4S,5R,6R,2'S,3'S,4'R,6'R$ (compuesto U, Figura 14).

Para mostrar el poder de nuestras herramientas computacionales en determinación de configuraciones relativas y absolutas de productos naturales, realizamos la reasignación *in silico* de (+)-angiopterlactona B. De acuerdo con nuestro trabajo computacional, al correlacionar los datos de RMN del producto natural con los δ calculados para los 64 diastereoisómeros posibles, DP4+ identificó la configuración relativa correcta en alta probabilidad (Figura 14). Luego, para determinar a qué enantiómero corresponde la (+)-angiopterlactona B, calculamos los δ de RMN de los dos posibles ésteres de MPTA. Sin embargo, después de un análisis detallado de la información proporcionada por el equipo de aislamiento, en nuestra opinión, los autores no consideraron el cambio en la asignación Cahn-Ingold-Prelog al preparar los ésteres de MPTA a partir de los cloruros de ácido correspondientes. De hecho, al correlacionar el desplazamientos de RMN calculados para **55** (U-(S)-MPTA, equivalente a *ent*-U-(R)-MPTA) y **56** (U-(R)-MPTA, equivalente a *ent*-U-(S)-MPTA) con los δ experimentales del éster (R)-MPTA de (+)-angiopterlactona B (que según nuestra hipótesis se informaron originalmente para el derivado (S)-MPTA), DP4+ sugiere que **56** es el más probable (69%). Dado que la configuración del MPTA es R, entonces el producto natural debe ser U. Siguiendo un razonamiento similar, cuando se usan los δ de RMN del éster (S)-MPTA (originalmente informado para el éster (R)-MPTA), la estructura **55** sería el candidato más probable por DP4+ (72%), lo que refuerza la asignación anterior. Combinando los dos resultados DP4+ utilizando nuestra probabilidad DIP, la configuración absoluta de la (+)-angiopterlactona B natural se puede definir como $4S,5R,6R,2'S,3'S,4'R,6'R$, en excelente concordancia con la evidencia sintética. Es cierto que, sin tener acceso a una muestra auténtica del producto natural, el análisis anterior solo representa una explicación sólida de los orígenes de la asignación incorrecta.

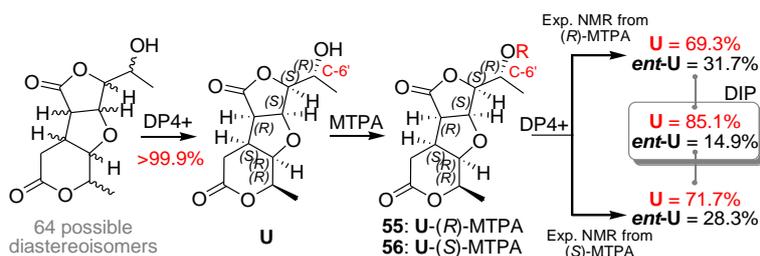


Figura 14. DP4+ in the assignment of the relative and absolute configuration of (+)-angiopterlactone B

CONCLUSION

Se determinó la capacidad de DP4+ para la asignación de la configuración de epóxidos en una amplia familia de compuestos estructuralmente variados, demostrándose que en todos los casos bajo estudio los resultados fueron excelentes. De este modo DP4+ constituye un método sumamente confiable para la determinación estructural de este tipo de moléculas.

Se evaluó exhaustivamente la capacidad de clasificación de DP4+ en 114 ejemplos de derivados de CDA que presentan una amplia diversidad de motivos estructurales y estereoquímicos. El rendimiento del método varió de muy bueno a excelente, dependiendo de la naturaleza del CDA y el sustrato, lo que permite una asignación segura de la configuración absoluta más probable de alcoholes y aminas siguiendo un enfoque de simple derivatización. Además, en el escenario más típico de una derivatización doble, los dos resultados DP4+ independientes se pueden combinar en una sola probabilidad DIP, que identifica correctamente la CA de los 54 pares diastereoisoméricos en estudio

Sobre la base de estos resultados, sugerimos que DP4+ surge como una herramienta poderosa y simple para determinar la configuración absoluta más probable de las moléculas orgánicas, que podría usarse en combinación con otras técnicas para reforzar los resultados obtenidos.

Botellas de PET Aplastadas Verticalmente B-PET-AV destinadas a integrar partes constructivas de viviendas económicas. Verificación sobre su contribución a favorecer el bienestar ambiental interior con impacto en la salud de sus habitantes.

Directora: Espinosa A. E., **Codirectora:** Aradas Diaz, M. E.

Integrantes: Fernández C., Alvarez J., Enria G. **Auxiliares:** Fidelef S., Quaglini C., Coradello J., Baraldi M., Tabbuso M., Dulcich B., Cullen C., Brignoli O., Serra F., Demicco O., Chenevier D., Santa Cruz D., Asenjo F., Maderna J., Vignoli A., Roncoroni, L.

Resumen

El presente proyecto de investigación -con acción en el territorio de los vecinos del Barrio San Francisquito, intenta reflejar nuestra visión en adecuar modos de construir, habitar y pensar como experiencia de salvación comunitaria desde una geocultura determinada. Esta conceptualización y modos de posicionarnos como introducción en el marco de nuestro proyecto académico dan cuenta por dónde andaremos buscando vestigios...

En principio trabajamos con una herramienta técnica para aplastar las botellas de una manera más eficiente; material necesario y fundamental para elaborar nuestro objeto de estudio e investigación, fue desarrollada por los alumnos de la **Escuela Técnica San Francisquito**, pues, y según el relato que hemos escuchado de su Director, Alexis Alsop, la concreción de dicho utensilio, proviene de una búsqueda que se origina con la necesidad imperiosa de ayudar a la abuela de un alumno, que realizaba dicha labor, aplastando las botellas con los pies. Basados en el pensamiento descrito y expresado íntegramente en los párrafos anteriores se propone un nuevo prototipo de paredes que intenta superar y mejorar la propuesta original que utilizaba dicho aplastador según indagaciones que le precedieron mediante una investigación anterior de la cual la presente es continuidad. El mismo resurge ante el compromiso y dedicación de los alumnos de 5° año de la carrera de ingeniería ambiental que aceptan el desafío de compartir sus saberes técnicos universitarios integrándolos a los saberes del nivel secundario de los jóvenes de la escuela. El fin es transferir la experiencia en el "aprender a saber hacer" con la comunidad del Barrio San Francisquito, mediados por la institución educativa que le es confiable. Es generar puentes colaborativos entre la Facultad, la Escuela y el Barrio como instrumento fundante de una construcción colectiva del conocimiento disponible que debe ser asequible para cualquier persona, familia o grupo que necesite disponer de él.

Abstract

The present research project - with action in the territory of the neighbors of Barrio San Francisquito, tries to reflect our vision in adapting ways of building, inhabiting and thinking as an experience of community salvation from a specific geoculture. This conceptualization and ways of positioning ourselves as an introduction in the framework of our academic project show where we are looking for vestiges ...

In principle we work with a technical tool to crush the bottles in a more efficient, necessary and fundamental material to develop our object of study and research, it was developed by the students of the San Francisquito Technical School, then, and according to the story we have heard from its Director, Alexis Alsop, the concretion of said utensil, comes from a search that originates with the imperative need to help the grandmother of a student, who performed such work, crushing the bottles with his feet.

Based on the thought described and expressed in full in the previous paragraphs, a new prototype of walls is proposed that attempts to overcome and improve the original proposal that said crusher used according to inquiries that preceded it through an earlier investigation of which this is continuity. The same one resurfaces before the commitment and dedication of the students of 5th year of the environmental engineering career that accept the challenge of sharing their university technical knowledge integrating them to the secondary level knowledge of the young people of the School to transfer the experience in the "learn to know how to do" with the Community of Barrio San Francisquito, mediated by the educational institution that is reliable. It is to generate collaborative bridges between the faculty, the school and the Neighborhood as a founding instrument of a collective construction of the available knowledge that must be affordable for any person, family or group that needs to have it available

El presente proyecto de investigación - acción en el territorio del Barrio San Francisquito, intenta reflejar nuestra visión en adecuar modos de construir, habitar y pensar como experiencia de salvación comunitaria desde una geocultura determinada. Esta conceptualización y modos de posicionarnos como introducción en el marco de nuestro proyecto académico dan cuenta por dónde andaremos buscando vestigios...

“*Construir, habitar y pensar*”⁸ -**Bahuen, Wohnen, Denken**- es una brillante conferencia que dió M. Heidegger en 1951 en Darmstadt dirigida a los arquitectos que tenían, nada más y nada menos, la desafiante tarea de llevar a cabo la reconstrucción de la Alemania arrasada por la guerra. Debían revertir la miseria de la posguerra a partir de un proyecto para la realización de viviendas masivas en miras de sanear la problemática habitacional que los bombardeos aliados habían dejado como consecuencia de su agresiva acción destructiva. Se puede encontrar en este trabajo ante el análisis y crítica de dicha coyuntura histórica/económica y política, que superan la temporalidad misma, que perfectamente puede aplicarse a muchas construcciones que tanto en el hoy como en el ayer no siempre han tenido o tienen en cuenta el alcance mismo del habitar humano y sus dimensiones existenciales. Así, entre algunos de los puntos que en ella desarrollará, expreso con intensa claridad que es necesario que el pensamiento vaya más allá de la simple construcción, pues el habitar, en cuanto, propiedad puramente humana posee una dimensión superior y trascendente.

Dos preguntas abren dicha conferencia: ¿Qué es habitar? y ¿Hasta qué punto el construir es inherente al habitar? Así el autor, comienza respondiendo y mostrando que al parecer al habitar llegamos recién a través del construir, entendiendo que éste tiene como meta el habitar, pero por otro lado también podemos constatar que no todas las construcciones que los hombres proyectan y realizan, son viviendas como lugares para habitar...⁹

Ello nos conduce a reflexionar sobre la “*Experiencia de Salvación Comunitaria*”...es un término que utilizara el Papa Francisco en su Encíclica “*Laudato Si*”¹⁰, bajo el fin de hacer referencia a ciertas actitudes y gestos que se recogen en el vivir de la gente que pasa por privaciones económicas acuciantes y que por lo mismo, muchas veces causan asombro, desencadenando en muchas oportunidades, preguntas y recapitaciones sobre la dimensión humana en si misma: “*Esta experiencia de salvación comunitaria es lo que suele provocar reacciones creativas para mejorar un edificio o un barrio*” (LS 149).

Uno de los anclajes o fundamentos de nuestro trabajo de investigación se encuentra en ésta mirada y perspectiva que el Papa señala, pues no solo porque en nuestro accionar buscamos plasmar y concretizar desde nuestros saberes la posibilidad de encarnar solidariamente una mejora en la vida de las personas desde el habitar mismo, sino porque fundamentalmente, ya en parte nos hemos nutrido con muchos saberes que son productos de las riquezas existenciales y los conocimientos que la gente posee, entablando, por lo mismos, un diálogo en dónde se comparte la ignorancia y el saber, que goza de necesaria reciprocidad.

Concretamente y sin ir más lejos, la herramienta técnica para aplastar las botellas de una manera más eficiente, material necesario y fundamental para elaborar nuestro objeto de estudio e investigación, fue desarrollada por los alumnos de la Escuela Técnica San Francisquito, pues, y según el relato que hemos escuchado de su Director, Alexis Alsop, la concreción de dicho utensilio, proviene de una búsqueda que se origina con la necesidad imperiosa de ayudar a la abuela de un alumno, que realizaba dicha labor, aplastando las botellas con los pies. Esta tarea generaba en la abuela una fatiga importante y no menos dolorosa en algunos de sus miembros, de ahí el invento. Un ejemplo preciso de aquella “*reacción creativa*” exigida por una necesidad concreta en miras alcanzar un impacto de mejora y en parte de salvación desde una mirada solidaria. El Papa Francisco que, sin dudas por su experiencia personal en sus habituales visitas a los barrios carenciados del conurbano bonaerense, lo habrá podido constatar con su propio mirar, rescatándolo, así como riqueza de un saber tan importante, que es el saber de la vida misma, es un saber para la vida, es un saber para el fruto que nutre la sabiduría de aquel que humildemente se reconoce en el otro y en el saber hacer.

El Papa Francisco, al referirse a estas experiencias, en la Encíclica misma cita al Filósofo y Teólogo Jesuita, por otra parte, amigo personal, Juan Carlos Scannone, quién profundiza dicha temática en un trabajo que titula: “*Experiencias de salvación comunitaria, según Laudato Si (LS 149)*”¹¹. Dicha labor, así como la obra misma en la que se encuentra, la que por su parte fuera presentado en nuestro Campus de Rosario el 5 de junio de 2018 con la presencia del propio P. J.C. Scannone, nos brindó un considerable material para enriquecer nuestro pensar en la producción y avance de nuestra investigación.

“*Desde una geocultura determinada*”... tiene como referente epistémico al filósofo argentino R. Kusch (1922 – 1979) y sobre todo una de sus obras emblemáticas “*Geocultura del Hombre Americano*”¹² (1976), desde cuya lectura nos permite asomarnos a la necesidad de un pensar situado. La Geocultura implica la intersección de lo geográfico con lo cultural ya que hay una gravidez del pensar mismo hacia su suelo y fundamentalmente marcado por éste. Así en sintonía con algunas de las líneas que justifican nuestro proyecto, podremos encontrar lo siguiente: “*...tomando como área piloto*” el **Barrio San Francisquito a través de la participación del CEFEDER que articula con la Escuela de Educación Técnica Particular Incorporada EETPI N° 2076 “San Francisquito” que se encuentran vinculada mediante otros proyectos a las actividades que convoca y desarrolla la Facultad. Entre ellos se dio inicio al mismo en**

⁸Heidegger, Martin, “*Construir, habitar, pensar*”, Alción Editora, Córdoba, Argentina, 1997.

⁹Ídem. Pág.

¹⁰Francisco, “*Laudato Si: sobre el cuidado de la casa común*”, Carta Encíclica, CEA (Oficina del Libro), CABA 2015.

¹¹ Autores Varios, Grupo Farell, “*LaudatoSi. Lectura desde América Latina. Desarrollo, exclusión social y ecología integral*”. Ediciones Ciccus, CABA 2017.

¹²Kusch, Rodolfo, “*Geocultura del Hombre Americano*”, Obras Completas, Tomo III, Ed. Fundación Ros, Rosario, 2000.

*el marco del Proyecto Marginalidad Urbana y Organizaciones de la Sociedad Civil en el Barrio San Francisquito (2014-2017) donde la información generada sobre las condiciones de habitabilidad, dieron cuenta de la necesidad de mejorar las mismas para mejorar la calidad de vida de las familias*¹³

Si bien desde el conocimiento puramente técnico académico podríamos abstraernos de algún “locus”, queremos pensar esto desde un lugar y para un lugar determinado, ya que nuestra investigación, en cuanto hace referencia a mejorar las viviendas en situación de precariedad, nos remite inmediatamente al habitar mismo que es una de las formas en la que el hombre propiamente está conformando el mundo. Pensar el habitar de hombres y mujeres, es pensarlos no como abstracción sino desde su misma mundanidad que tiene fundamentalmente que ver con su *estar siendo...para el fruto*¹⁴, pues hacia esto último se ordenan la mayor cantidad de acciones que los hombres a lo largo de nuestra vida concebimos. El hombre no vive ni está en el mundo como otros seres, sino que lo habita, es decir está teniéndolo, reverenciándolo, dándole significado, y por lo mismo, ejerciendo su capacidad axiológica...por eso construye...y también destruye.

Como podemos apreciar, desde estas humildes líneas, la propuesta es simple y compleja a la vez, pues, se inscribe en aquel intentar poder ser hombres y mujeres, realizar nuestro ser comunidad desde aquellas actividades que, desde una mirada más occidentalizada, nos diferencia del resto de los seres: *pensar, para construir en miras de un habitar propio del hombre en cuanto persona, intentando buscar hacer que dicho vivir sea digno de lo que él mismo es*. Inexorablemente, la riqueza y complejidad de dicha temática amerita que esto sea abordado desde muy diferentes planos, áreas, aristas, realidades y sobre todo en relación con las disciplinas a que ellas mismas nos remiten. De ahí que necesariamente nuestro trabajo pueda ser y de hecho sea: **multi-** pero, sobre todo, **inter – disciplinar**, pues el primero no siempre y necesariamente supone al segundo, no siempre ni necesariamente lo multi exige lo inter. Es un desafío y meta para alcanzar.

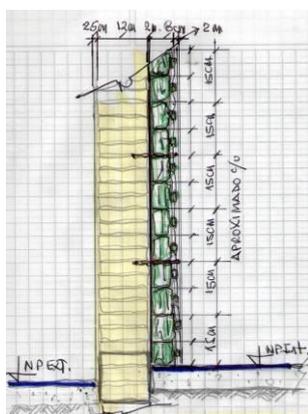
Basados en el pensamiento descrito y expresado íntegramente en los párrafos anteriores se propone un nuevo prototipo de paredes que intenta superar y mejorar la propuesta original que utilizaba dicho aplastador según indagaciones que le precedieron mediante una investigación anterior de la cual la presente es continuidad. El mismo resurge ante el compromiso y dedicación de los alumnos de 5º año de la carrera de ingeniería ambiental que aceptan el desafío de compartir sus saberes técnicos universitarios integrándolos a los saberes del nivel secundarios de los jóvenes de la escuela para transferir la experiencia en el “aprender a saber hacer” con la comunidad del Barrio San Francisquito, mediados por la institución educativa que le es confiable. Es generar puentes colaborativos entre la facultad, la escuela y el Barrio como instrumento fundante de una construcción colectiva del conocimiento disponible que debe ser asequible para cualquier persona, familia o grupo que lo necesite disponer.

En el momento que los alumnos de la facultad entran en contacto y conocimiento con el primer prototipo diseñado, tal como había sido planteado y se debía desarrollar, se enfrentaron con ciertas dificultades con respecto a la preparación y producción del material, los procesos que requería, la transformación en elementos apropiados y los tiempos de elaboración. En primer lugar, se relevó que la materia prima procesada que se había acopiado y se disponía era muy variada en sus dimensiones, espesores y tipo de texturas; ello es debido a que el material básico son botellas de distintas marcas, diferentes características de plásticos y formas de diseño. Esto se traduce, porque a partir de realizar el conteo y clasificación de la materia original, se encuentran con botellas aplastadas que poseen formas irregulares, con distintos diámetros y longitudes que arrojar como resultados irregularidades difíciles de aplicar en la ejecución del revestimiento que intenta mejora las condiciones internas de temperatura que permita confort ambiental. Por ende, la pared-revestimiento resultante es muy heterogénea. Ello implica que se plantean ciertas dificultades a la hora de vincularlas y apoyarlas sobre el muro que se pretende revestir para mejora su “Factor “K” sobre transmitancia térmica. Lo que se verifica que, al ensamblarse, las distintas botellas aplastadas es dificultosos su unión y la posibilidad de mantenerse adheridas al muro original. La idea inicial sobre generar un hilo de plástico, que es elaborado a partir de los restos botellas de 1 lts, 2 lts y 2,25 lts demostró ser poco factible ante la necesidad de disponer de determinadas herramientas que no logran alcanzar el espesor mínimo de 3 a 2 mm. Fundados en esta circunstancia y los resultados analizados, se propone indagar sobre otras formas de abordar la idea original y probar una nueva técnica constructiva. En función de diferentes pruebas – error que se llevaron a cabo por el equipo, sobre el diseño posible basados en reglas del arte para realizar el muro-revestimiento se propuso una nueva práctica. Para ello se procedió en realizar un corte a las botellas de 500ml, pero esta vez sin aplastar, descartando la parte que conforma la base de esta. La misma sin su base se encastra con la botella anterior, como si se tratara de encastrar tejas. El procedimiento es el siguiente: la parte correspondiente al pico ingresa por el agujero que queda al quitar el fondo del envase. De este modo, se conforma una columna con las botellas; a las cuales se las observa libres de las etiquetas, porque las misma dificultan el ensamble. Se verifica que uniendo 7 unidades ya procesadas permite completar un (1) metro lineal de altura.

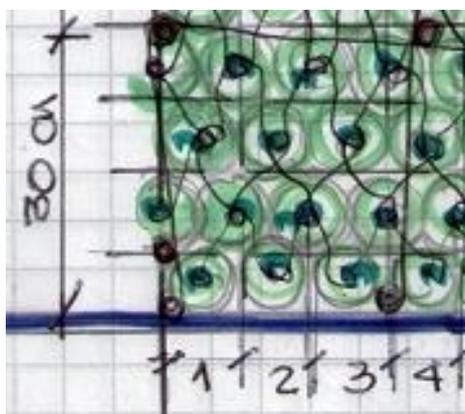
13 Aradas Díaz, María Elena; Enria, Graciela; Dachesky, Melina; Fernández, Carlos; Ruiz, Luciana; Alsop, Alexis; Bonanno, Carina; Fleba, Roberto; Mansilla, Verónica. “Pensando en nuestro Barrio Podemos decir”...(2016

¹⁴Kusch, Rodolfo, “*América Profunda*”, Obras Completas Tomo II, Ed. Fundación Ros, Rosario 2000, Págs. 222-230

A los fines de trabajar en la producción de la unidad de análisis que es el metro cuadrado (M2), las columnas elaboradas con las botellas modificadas se acomodan sobre una placa de madera de 1 x 1 metro (1 m2) con una base de 10 cm en el extremo inferior para obrar de sostén. Se necesitaron 15 columnas de botellas para cubrir el espacio de dicha plancha, utilizando un total de 105 botellas para componer un metro cuadrado (M2). Con el objetivo de contener las botellas se realizaron perforaciones en la plancha cada 20 cm, en las cuales se colocaron varillas roscadas de Ø 6mm con tuercas a sus extremos con el objetivo técnico que permanezcan fijas en su lugar. El espesor ocupado por las botellas es de un promedio de 6 cm, por lo que se debe adecuar la longitud de las varillas roscadas metálicas para que sobresalgan por lo menos 1,50 cm, ello es lo que permite ligar y trabar con alambre. Éste se ubica por encima de las 15 columnas trabajando con geometrías ortogonales y diagonales que aseguran la fijación y contención de las columnas de botellas asociadas. Según la densidad con la cual se trabaja con el alambre de fijación se conforma un tipo de urdimbre sobre la cual se apoya una red que puede ser de material plástico a los fines esta reciba la terminación de los revoques interiores o cualquier otro tipo de mortero o revestimientos final que la familia desee o pueda disponer. Las terminaciones son otro desafío de la investigación-acción que deja aristas abiertas para seguir examinando. En este tiempo queda pendiente realizar ensayos con ambos prototipos que se encuentran en marcha. Es necesario efectuar las pruebas correspondientes de transmisividad térmica y corroborar si las diferencias que se tiene según una serie de lectura en diferentes estaciones sean significativas. De igual modo es importante considerar que si se consigue al menos 2 C° a 3 C° -grados centígrados- de diferencia entre la temperatura exterior con el interior, según se encuentren en la estación de invierno o verano, la propuesta habrá colaborado con su contribución a favorecer el bienestar ambiental interior con impacto en la salud positiva de sus habitantes.



Revestimiento original



Detalle de colocación



Detalle nueva propuesta

Como toda investigación – acción sensible a las necesidades de la comunidad en la cual interactúa y participa, ante las demandas de la actual crisis multidimensional, que golpea fuertemente en los costos de la energía y en la mayoría de las familias ante la imposibilidad de poseer asequibilidad, el proyecto de investigación se vio interpelado por una nueva propuesta de servicio para la comunidad. Ello consiste en el desarrollo y puesta a prueba de termo tanques ejecutado con materiales reciclados, comúnmente denominado “calentadores solares” que aportan a la autonomía en la disponibilidad de agua caliente y por ende en parte a la sustentabilidad de la familia, contribuyendo a la Soberanía Energética de los mas vulnerables.. Estos son equipos construidos con un 70% de materiales reciclados, que funcionan a base de energía solar disponible en abundancia en nuestra zona y gratuita. Esta nueva iniciativa surge dentro del mismo equipo de trabajo, por ende, se apuesta a una nueva demanda basada en la comprensión de la situación por parte del grupo, que se pone en marcha con el fin de mejorar la disponibilidad de agua caliente para las viviendas en riesgo social en el Barrio San Francisquito y transmitir los conocimientos a los alumnos de secundaria con quienes se construyen el calentador. Este proyecto fue presentado a alumnos de primer año de secundaria, con quienes se organizaron dos (2) jornadas de trabajo, en las cuales se construyó el primer termo tanque para instalar en la escuela.

El vínculo generado, no solo nos permite enseñar una nueva técnica para la obtención de agua caliente, sino también transmitirles la importancia de adoptar nuevos hábitos más amigables con el ambiente, facilita concientizar a la población, fomentando el uso de los materiales residuales como recursos o materia prima.



HOGARES SOLARES

SOBERANÍA ENERGÉTICA

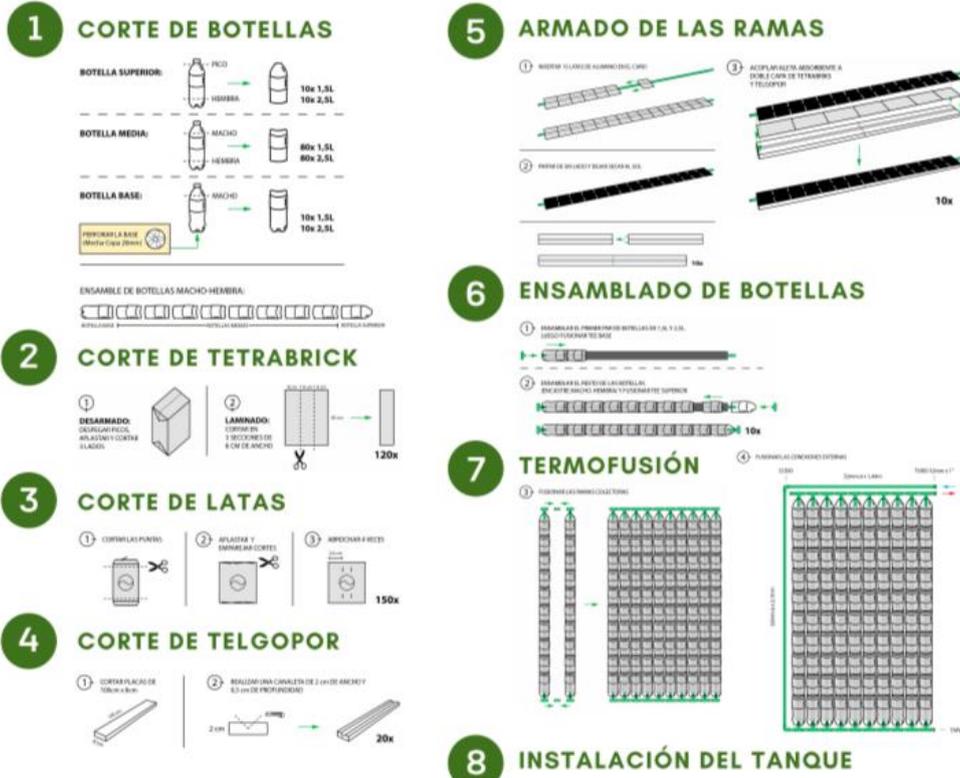
HOGARES SOLARES: TERMOTANQUES SOLARES A PARTIR DE MATERIALES REICLADOS

Directora de Proyecto: Arq. Ana Espinosa



COMPROMISO SOCIAL

Sofía Fideleff, Ma. Cecilia Quaglino, Juan Coradello, Milagros Baraldi, Milton Tabbuso, Belen Dulcich, Camila Cullen, Oriana Brignoli, Francisco Serra, Martín Demiccio, Dellina Chenevier, Daiana Santa Cruz, Florencia Asenjo, Julieta Maderna, Lucia Roncoroni, Agustina Vignola.
 *Alumnos de 5to año de la carrera de Ingeniería Ambiental de la Facultad de Química e Ingeniería del Rosario de la Universidad Católica Argentina.



Nuestro próximo paso es construir un segundo equipo en una jornada abierta en el barrio, donde los alumnos involucrados puedan invitar a sus familias para participar y aprender hacer. La iniciativa de trabajar con la escuela permite que los alumnos sean tan partícipes como nosotros del proyecto, pudiendo ellos aportar sus ideas y así transmitir la técnica aprendida a su comunidad, de esta forma lograremos que los usuarios de los termo tanques solares estén íntimamente vinculados a su construcción, pero sobre todo a su cuidado y mantenimiento, procurando así la perdurabilidad de nuestro proyecto, cumpliendo nuestro objetivo final de lograr que la técnica permanezca en el “Barrio” más allá de la presencia de la facultad.



Equipo de trabajos alumnos de la Escuela y de 5º de Ingeniería Ambiental

Para poder poner a disposición estos saberes, los estudiantes, elaboraron un instructivo sencillo de libre acceso, para poner a disposición la tecnología con los ajustes propios de la experiencia, que fue presentado como poster en el Congreso de Ambiente 2019, en la ciudad de Rosario y fueron ganadores del Premio Enrique Saw 2019.

La propuesta del presente proyecto encuadra asimismo en la posibilidad real de alcanzar por parte de los habitantes de las viviendas donde se pueda implementar, la tan preciada calidad de vida, expresada en términos ambientales (art. 41 CN). Esto en su doble objetivo, tanto en el uso de material económico para la construcción de viviendas, con propiedades adecuadas para su fin ya sea en lo estructural, como en lo térmico. Y como acción que cumple los parámetros legales de tratamiento de RSU, así el reciclaje, la reutilización y su reducción.

El principio de calidad de vida fue expresado en la Conferencia de Estocolmo de 1972. Por su parte, en la Conferencia de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo Sostenible, que tuvo lugar en Río de Janeiro, Brasil durante el año 2012, los acuerdos se enfocaron en los modos de reducir la pobreza, fomentar la equidad social y garantizar la protección del medio ambiente. Ellos son objetivos que encuadran satisfactoriamente en el objeto de estudio que presenta el proyecto de la facultad. En otro aspecto, tiene jerarquía constitucional, que lo posiciona tal como lo expresa la Corte Suprema de Justicia de la Nación, citando sólo dos de sus pronunciamientos.

“El reconocimiento de status constitucional del derecho al goce de un ambiente sano, ... (art. 41 de la Constitución Nacional) no configuran una mera expresión de buenos y deseables propósitos para las generaciones del porvenir, supeditados en su eficacia a una potestad discrecional de los poderes públicos, federales o provinciales, sino la precisa y positiva decisión del constituyente de 1994 de enumerar y jerarquizar con rango supremo a un derecho preexistente”. Cruz, Felipa y otros c/ Minera Alumbrera Limited y otro, s/sumarísimo. C. 154. XLIX. RHE. 23/02/2016. Fallos: 339:142

Enunciando la constitución en su párrafo, “... considerar el derecho a vivir en un ambiente sano (art. 41 de la Constitución Nacional ...) y que el Estado garantiza la aplicación de los principios de sustentabilidad, precaución, equidad intergeneracional, prevención, utilización racional, progresividad y responsabilidad (art. 83 de la Constitución de la Provincia de Entre Ríos). MAJUL, JULIO JESUS c/ MUNICIPALIDAD DE PUEBLO GENERAL BELGRANO Y OTROS s/ACCION.

En síntesis, definimos en el principio del documento que se abordaba un proceso de investigación - acción - participativa que ha incorporado la articulación interdisciplinaria académica y comunitaria -saberes compartidos, integrar la intersubjetividad que es trabajar en la comprensión de la realidad integrada a la inter-institucionalidad que debe coordinar la gestión de la acción.

El eje transversal de la investigación es la dimensión ambiental como justicia ambiental que se apoya en el concepto de desarrollo humano que busca garantizar un ambiente saludable, digno y apropiado para ejercer derechos y obligaciones con ejercicio de las potencialidades para llevar una vida creativa y productiva acorde a los intereses y necesidades de la propia comunidad del barrio. El planteo es lograr estar-siendo desde aquellos que habitan el B° San Francisquito, desde la marginalidad. (Fernandez C. 2017)

Fundamentalmente es una estrategia colectiva de construcción del conocimiento teórico - práctico estableciendo el conocer - hacer que forja el eje en el respeto de la mirada del otro.

Bibliografía:

Aradas Díaz; M.E.; Dachesky, M.; Enria, G.. La construcción de derechos humanos a través de la investigación acción en un barrio precarizado de la ciudad de Rosario (2017). CEFEDER UCA sede Rosario.

Aradas Diaz, ME.; Enria, G.; Dachesky, M. y Fernández, C. (2017). El Barrio San Francisquito: Una mirada construida participativamente. ISBN: 978-987-28928-4-5 Ed. CEFEDER UCA ROSARIO

Aradas Díaz, María Elena; Enria, Graciela; Dachesky, Melina; Fernández, Carlos; Ruiz, Luciana; Alsop, Alexis; Bonanno, Carina; Fleba, Roberto; Mansilla, Verónica. “Pensando en nuestro Barrio Podemos decir”...(2016)

Autores Varios, Grupo Farell, “*LaudatoSi. Lectura desde América Latina. Desarrollo, exclusión social y ecología integral*”. Ediciones Ciccus, CABA 2017.

Autores Varios, *La Solidaridad como Excelencia*, VI Jornada de Reflexión Ético-Teológica, Ed. San Benito, Bs. As. 2003.

Espinosa, Ana Emilia; Enria, Graciela, Aradas Diaz, María Elena. **Construyendo talentos barriales de habitabilidad y solidaridad (2017)** Centro Franciscano de Estudios y Desarrollo Regional (CEFEDER) y Facultad de Química e Ingeniería del Rosario.

Francisco, “*Laudato Si: sobre el cuidado de la casa común*”, Carta Encíclica, CEA (Oficina del Libro), CABA 2015.

- Heidegger, Martin, “*Construir, habitar, pensar*”, Alción Editora, Córdoba, Argentina, 1997.
- Kusch, Rodolfo, “*América Profunda*”, Obras Completas Tomo II, Ed. Fundación Ros, Rosario 2000.
- “*Geocultura del Hombre Americano*”, Obras Completas, Tomo III, Ed. Fundación Ros, Rosario 2000.
- Yepes Stork, Ricardo, – Aranguren Echavarría, Javier, *FUNDAMENTOS DE ANTROPOLOGIA: Un ideal de la excelencia humana*. EUNSA. NAVARRA – 1998
- NCCyCN. Nuevo Código Civil y Comercial de la Nación. Agosto 2015.-
- Aislamiento térmico - Lluís Jutglar i Banyeras. Editorial ceac. Barcelona Año 1998.
- Carta Encíclica Laudato Sí' del Santo Padre Francisco sobre el cuidado de la casa común.
- Saja Sáez José A. de, Rodríguez Pérez Miguel A., Rodríguez Méndez Ma Luz. *Materiales Estructura, Propiedades y Aplicaciones*.- Cap. 5 Edit. Thomson
- Braun, D., Carl Hanser Verlag *Métodos Sencillos de Identificación de Plásticos*, Munchen, 1989
- Garrido L., Ibarra M., Marco C. Coordinadores *Ciencia y tecnología de materiales polímeros (volumen I y volumen II)* Edición Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros, CSIC, Madrid, 2004.
- Seymour, R. B., Jr. Carraher, C. E. *Introducción a la Química de Polímeros*. Reverté, Barcelona, 1995.
- <https://revistas.um.es/daimon/article/view/285311/225491>

Regulación de calidad de agua desde la perspectiva de la Ingeniería y la Economía Ambiental

Water quality regulation from the perspective of Engineering and Environmental Economics

L. Herrera¹, E. Luccini^{1,2}, M. Parodi^{1,3}, M. Matar^{1,3}, J. Gomez Insausti¹

¹ Facultad de Química e Ingeniería del Rosario, Pontificia Universidad Católica Argentina. Santa Fe, Argentina.

² CONICET - Centro de Excelencia en Procesos y Productos de Córdoba (CEPROCOR). Córdoba, Argentina.

³ Facultad de Ciencias Exactas, Ingeniería y Agrimensura, Universidad Nacional de Rosario. Santa Fe, Argentina.

Resumen

Debido a su importancia para la vida humana y a la magnitud del despliegue necesario tanto para su disposición como para su cuidado, el control de la calidad del agua se ha transformado en las últimas décadas en una de las áreas más prominentes de la ingeniería ambiental y de la economía ambiental. Una estrategia implementada por países que cuentan con una importante experiencia en este tipo de políticas ambientales consiste en recurrir a incentivos económicos, con el fin de sumar a los distintos agentes contaminadores al proceso mismo de reducción de la contaminación. En este trabajo analizamos los posibles resultados de este tipo de regulación, aplicada a calidad del agua en el curso de un río sobre el cual se producen vertidos de diversas fuentes, mediante la implementación de un modelo de control de la contaminación y a su correspondiente simulación computacional. Se plantea un problema de optimización sobre un modelo de simulación de mercado basado en agentes de descargas de efluentes (puntuales y no puntuales), desarrollado en Estados Unidos de América (USA) y que puede ser aplicable en muchos aspectos, con su correspondiente adaptación, a nuestro país.

Palabras clave: control de contaminación en agua; incentivos económicos; ingeniería ambiental; economía ambiental; modelo y simulación numérica.

Abstract

Due to its importance for human life and the magnitude of the deployment necessary both for its disposal and for its care, the control of water quality has in recent decades become one of the most prominent areas of environmental engineering and environmental economics. A strategy implemented by countries that have significant experience in this type of environmental policies is to resort to economic incentives, in order to include the different pollutants to the process of pollution reduction. In this work we analyze the possible results of this type of regulation, applied to water quality in the course of a river on which spills from various sources occur, through the implementation of a pollution control model and its corresponding computational simulation. An optimization problem arises on a market simulation model based on effluent discharge agents (punctual and non-punctual), developed in the United States of America (USA) and which can be applicable in many aspects, with their corresponding adaptation, to our country.

Keywords: water pollution control; economic incentives; environmental engineering; environmental economics; model and numerical simulation.

1. Introducción

Los mercados de cuotas de contaminación (mercados de calidad de agua) relacionados con el vertido de efluentes directos (fuentes puntuales) o difusos (fuentes no puntuales) constituyen una fórmula de reasignación de derechos y obligaciones de vertido que persigue una distribución más eficiente de las cargas ambientales. Quienes pueden mejorar la calidad del efluente con menor coste, superando sus obligaciones legales, generan créditos transmisibles a quienes están en situación inversa. Este tipo de mercado ha alcanzado un cierto desarrollo en USA y su implantación es creciente en diversos países.

En este trabajo implementamos un modelo, y la correspondiente simulación del comercio de permisos de descargas de contaminantes. Si bien, tanto el modelo como la simulación desarrollada remiten al caso de USA, se pueden generalizar sus más importantes conclusiones y extenderlas a otros casos de estudio. Las simulaciones están diseñadas como un marco de referencia para explorar los resultados emergentes de esta comercialización bajo una especificación particular de parámetros de diseño de mercado y en presencia de información asimétrica, agentes heterogéneos y costos de transacción. Estas simulaciones permitieron obtener un mapeo del diseño de los mecanismos (estructuras y normas existentes en el mercado) que fundamentan el comportamiento de los actores económicos (el rendimiento del mercado).

2. Modelo de control de contaminación de una cuenca hídrica

El modelo de control de la contaminación aquí presentado se basa en los trabajos pioneros de Kendrick, Rao and Wells (1971) y de Foley y Haines (1972). Para una discusión más detallada sobre la determinación óptima de las tasas de efluentes contaminantes se puede consultar a Haines, Foley and Yu (1973) y a Haines (1971) y sobre los sistemas de control de contaminación que derivan su eficacia de la teoría de la dualidad se puede consultar a Solow (1971), también a Dofman and Jacoby (1970).

La figura (1) es un diagrama esquemático de una parte de un río en la que (n) fuentes (industrias y municipios) descargan efluentes contaminantes. Los contaminantes consisten en diversos materiales pero, para simplificar el modelo de contaminación, supondremos que su impacto sobre la calidad de la corriente de agua se mide en términos de una sola variable: la demanda bioquímica de oxígeno (DBO), la cual se encuentra en el oxígeno disuelto (DO) del río. Dado que el DO en la corriente de agua se utiliza para descomponer químicamente los contaminantes en substancias inofensivas, la calidad de la corriente de agua mejora con la cantidad de DO y disminuye con el aumento de la DBO. Se sabe que, si el DO decae por debajo de una cierta concentración, la vida en el río en cuestión está seriamente amenazada. Por lo tanto, es importante tratar los efluentes antes de que entren en la corriente de agua para reducir el DBO a niveles de concentración que pueden ser absorbidos con seguridad por el DO de la corriente de agua. Estamos buscando hallar el equilibrio óptimo entre los costes del tratamiento de los residuos y los costos del alto DBO en la corriente.

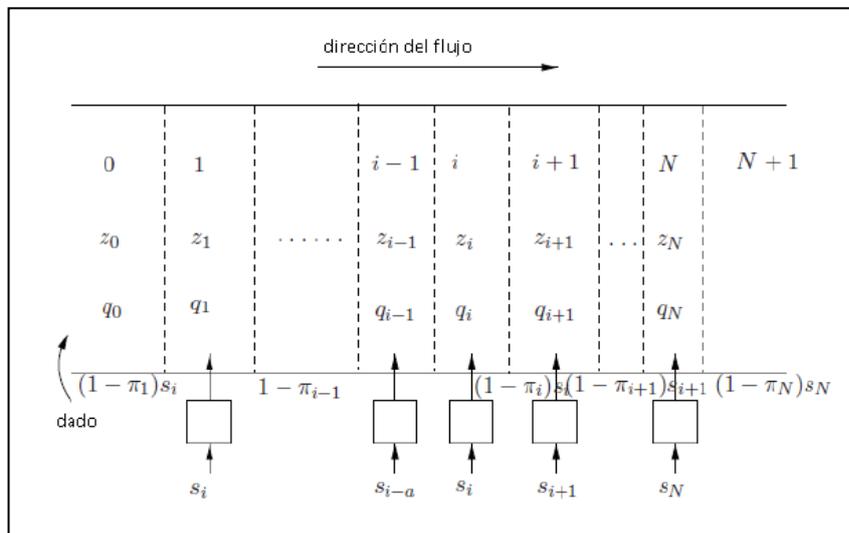


Figura 1: Esquema de una corriente de agua con descarga de efluentes.

Como caso de estudio y simulación del funcionamiento de estos mecanismos de negociación, Nga Phuong Nguyen (2009) define una cuenca hipotética que contiene 20 pequeños vendedores (fuentes de contaminación no puntual) y 4 grandes compradores (fuentes puntuales de descarga de contaminantes), reflejando el hecho de que los compradores de créditos en los mercados de nutrientes son normalmente las plantas de tratamiento de efluentes de propiedad pública (un pequeño número de plantas, grandes en tamaño) en comparación con los agricultores que normalmente serán los vendedores de los créditos. La figura (2) muestra una representación esquemática de una cuenca que contiene estos agentes de descarga, puntuales y no puntuales. Aunque estos datos espaciales son hipotéticos, el caso estudia los resultados de las características físicas principales de una típica cuenca basada en los mercados de calidad de agua de USA.

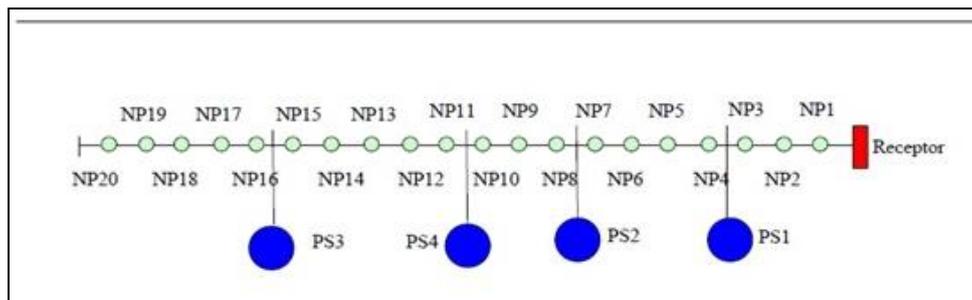


Figura 2: Cuenca hipotética con fuentes de descargas de efluentes

Los objetivos de los compradores para minimizar el costo total del control de contaminación se designan ($BTCC_i$). Los compradores se van a beneficiar comprando créditos si los costos de los créditos son más bajos que sus propios costos de reducción. Pero en el entorno de la comercialización, los compradores tienen incertidumbre sobre ambos, sus propios costos y los costos de los créditos. Los vendedores buscan maximizar los beneficios de las ventas de sus créditos, que se designan (SP_j). El beneficio es dado por la diferencia entre ingresos de la venta de créditos y los costos de generaciones de créditos. Tanto los vendedores como los compradores tienen incertidumbre sobre sus costos de control. Las interacciones de los agentes en el mercado dadas por el rendimiento de un costo ($E[BTCC_i]$) o beneficio ($E[SP_j]$), como medidas de rendimiento para cada comprador de esas decisiones y cada vendedor respectivamente, guían las decisiones individuales. Como resultado, el costo total del control de contaminación para la cuenca general, $E[TCC_k]$ es la suma de los costos asociados de todos los agentes con intercambio y reducción. Así, el problema de optimización puede ser representado por la siguiente expresión:

$$\min_x E[TCC_k] = f(E[BTCC_i], E[SP_j]) \quad (1)$$

$$St \begin{cases} t = \text{tasas comerciales inciertas} \\ T = \text{objetivo ambiental total} \end{cases}$$

El modelo estocástico de compradores y vendedores, en el proceso de toma de decisión, introduce un alto grado de complejidad matemática tanto en las funciones objetivo individual de cada agente y en la función objetivo del mercado general. Desde una perspectiva matemática, las funciones objetivo bajo restricciones son altamente estocásticas, no lineales y discontinuas, debido a la presencia de una alta gama de incertidumbres implícitas para las decisiones de comercialización de los agentes, y de sus consecuencias. Con múltiples agentes en el mercado, la escala del problema es grande aun cuando cada agente en el mercado tiene que tomar sólo un número pequeño de decisiones. Optimizar el costo total previsto del control de la contaminación para la cuenca en general es buscar estrategias de comercialización para agentes individuales, o un conjunto de estrategias de comercialización para el mercado en su totalidad, que están buscando “optimización” en cada realización de los parámetros inciertos mientras intentan alcanzar una disminución en las expectativas de las funciones de costo. Es importante destacar a aquellos agentes que no conocen las verdaderas mejores decisiones y que están intentando evitar decisiones que prometen mayores beneficios del comercio, pero que en definitiva demuestran ser perjudiciales.

3. Simulación computacional

3.1 Estructura, muestreo y lazos

Con el objetivo de encontrar estrategias “sólidas” de comercio comentadas anteriormente, se diseña un marco computacional para buscar sistemáticamente la “mejor solución conocida” a la formulación del problema de optimización (1). En este sentido, el modelo de simulación de mercado, basado en agentes de descargas de efluentes (puntuales y no puntuales), consta de:

- (1) Una muestra de población inicial (mercado en estado de equilibrio),
- (2) Bucle generacional
- (3) Bucle de negociación bilateral Monte Carlo y
- (4) Una fase de evolución.

Para cada población inicial de soluciones generadas aleatoriamente a la formulación del problema expuesto (1), son aplicados algoritmos genéticos (dos versiones del Algoritmo de Evolución Diferencial), para que evolucionen a un mercado equilibrado, con la meta de identificar sólidas instancias de bajo costo de los mercados simulados. A continuación, se brindan algunos detalles de los programas de simulación.

Un resultado del mercado como una solución al problema formulado en ecuación (1) es un patrón de las opciones de agentes. En otras palabras, cada miembro, en la combinación, contiene un conjunto de estrategias de comercio generadas aleatoriamente tomadas por todos los agentes. Incluso con un pequeño número de agentes, y opciones bastante sencilla de agentes (Sí participa en el mercado, con quien negocia, la opción de oferta y demanda, y sí acepta o rechaza ofertas) reporta un gran y potencialmente complejo conjunto de variables de decisión. Esto es porque las variables de decisión de los agentes son de diferentes tipos. (Continuas, dicotómicas y números enteros discretos). Para agregarle más complejidad a la simulación de comercialización de descargas puntuales y no puntuales, los agentes deben actuar en un alto entorno de decisiones inciertas. Entonces, evaluaciones determinísticas de las decisiones de un agente no son apropiadas y puede producir potencialmente mediciones engañosas y erróneas de la tendencia del mercado. La pregunta para hacer aquí es “¿Que tan grande debería ser el tamaño de la muestra del conjunto de población inicial?” En el contexto de mercados de calidad de agua, esta pregunta está asociada al problema de cómo representar todos los estados posibles de un mercado. En la práctica, es imposible representar todos los resultados

posibles de mercado, por lo tanto, la elección de (M) es elegido experimentalmente por un método propuesto por (PRICE and STORN, 2005). Inicialmente, un tamaño de muestra simple recomendado por (PRICE and STORN, 2005) es testeado. Después, el tamaño de la muestra es duplicado para detectar los cambios en el rendimiento del mercado. Si la ganancia marginal en rendimiento es limitada en relación al costo computacional, deberá ser elegido el más pequeño tamaño de muestra.

Esta muestra inicial de posibles estrategias de comercio de agentes constituye la primera generación del bucle evolutivo, sobre los algoritmos genéticos aplicados. Cada miembro de la primera generación es evaluado usando la simulación de negociación bilateral Monte Carlo que explica las incertidumbres de los agentes. Tomando todos los valores de parámetros inciertos asociados con la incertidumbre de los agentes como aleatorios y distribuidos independientemente, cada resultado posible de mercado en el conjunto anterior fluye a través del bucle de negociación bilateral Monte Carlo, (K) veces. Cada iteración representa una extracción simple (o realización) de todos los parámetros inciertos asociados con las estructuras de costos de los agentes y un patrón único de comercio correspondiente entre agentes. Para cada muestra, es posible observar la estructura de transacciones, o sea ver quien comercia con quien, qué precios son ofrecidos y aceptados, cuantos créditos son intercambiados. El costo total del control de la contaminación para cada comprador, los beneficios para cada vendedor, el costo de mercado total y otros parámetros económicos de interés son calculados por cada realización de la simulación de Monte Carlo. Los resultados del bucle de Monte Carlo son, por lo tanto, presentados en forma distribucional.

3.2 Algoritmos

Después del bucle de negociación bilateral Monte Carlo, el conjunto de resultados de mercado es pasado por iteraciones de búsqueda diferencial evolutiva (DE) mediante algoritmos denominados Evolución Diferencial Standard (SDE) y Evolución Diferencial Modificada (MDE). Usando ya sea el algoritmo SDE o bien el algoritmo MDE, las estrategias individuales de comercio de agentes son “evolucionadas”. Estos algoritmos serán analizados con más detalle a continuación. Por ahora nos interesa saber que cada generación nueva contiene el mismo número de posibles resultados de mercado, donde cada una de las cuales contiene sólo aquellas estrategias de comercio que han sobrevivido después de la selección. Cada nueva generación ingresa al bucle de negociación bilateral Monte Carlo en el bucle generacional, el algoritmo evolutivo busca la mejor solución en cada generación hasta que la máxima especificación del usuario es alcanzada.

3.2.1 Algoritmo diferencial evolutivo (DE)

El algoritmo DE que proponen (PRICE and STORN, 2005) pertenece a la clase de herramientas de optimización heurística llamados algoritmos evolutivos. DE ha demostrado ser capaz de búsquedas no diferenciables, no lineales y funciones objetivos multimodales con niveles superiores competitivos de éxito relativo a otros algoritmos genéricos y evolutivos. Este es un método de búsqueda directo estocástico, el cual usa un vector población donde la alteración estocástica de los vectores población se puede hacer independientemente, por lo tanto, los resultados pueden ser obtenidos en un tiempo razonable. La característica más importante de DE, es que toma el vector diferente de dos vectores de poblaciones elegidas aleatoriamente para alterar un vector existente (la alteración es hecha para cada vector población). Tiene buenos resultados en términos de propiedades de convergencia para un método global de minimización (PRICE and STORN, 2005). Similar a otros algoritmos de búsqueda evolutivos, DE es inspirado por la similitud a la evolución biológica. En particular, la estrategia básica de DE consiste en tres operadores: mutación, cruce, y selección. Brindaremos a continuación un detalle del mecanismo por el cual el algoritmo de evolución diferencial genera de nuevos individuos:

Mediante la mutación diferencial se añade la diferencia proporcional de dos individuos (v_2, v_3) elegidos aleatoriamente de la población a un tercer individuo (v_1 , individuo objetivo, *target*) también elegido aleatoriamente. El nuevo individuo w_i se denomina individuo mutado o vector mutado. Los vectores v_1, v_2, v_3 son mutuamente exclusivos y a su vez diferentes de w_i , donde $w_1 = v_1 + \mu(v_2 - v_3)$. La constante de mutación $\mu > 0$ establece el rango de diferenciación entre los individuos v_2 y v_3 . Tras la mutación se realiza una operación de recombinación sobre cada individuo v_i (target) para generar un individuo intermedio μ_i (trial).

El individuo intermedio μ_i es construido mezclando los componentes de w_i y v_i bajo una probabilidad predefinida $Cr \in [0,1]$.

$$u_i(j) = \begin{cases} w_i(j) & \text{si } rand \leq Cr, \\ v_i(j) & \text{en otro caso} \end{cases}$$

Finalmente el operador selección decide en base a la mejora del fitness, si el individuo intermedio μ_i es aceptado y reemplaza al individuo objetivo v_i o si por el contrario el individuo intermedio μ_i es rechazado y se conserva el individuo objetivo v_i en la siguiente generación. El operador de selección descripto asegura que el mejor fitness en la

población siempre es incorporado en la generación siguiente. DE es una aproximación de búsqueda poblacional la cual comienza con una población inicial de posibles vectores/soluciones. Esta población inicial es elegida aleatoriamente y debe abarcar el espacio de parámetro entero. DE crea nuevas soluciones posibles agregando la diferencia media entre dos soluciones aleatorias a una tercera solución. Esta operación es llamada mutación.

Para cada solución posible en cada generación, una solución mutante (o un competidor) es creada para competir en contra de la solución existente. El operador de cruce combina los parámetros en la solución mutada con los parámetros de otra solución predeterminada, el objetivo solución, para producir la denominada solución de prueba. Si la solución de prueba tiene un valor de función de costo más bajo que el del objetivo solución, la solución de prueba reemplaza el objetivo solución en la generación siguiente. Este proceso es realizado por el operador de selección.

3.2.2 Algoritmo standard diferencial evolutivo (SDE)

La estrategia básica de SDE es detallada a continuación, por la mutación y cruce sobre los operadores de SDE, nuevos patrones de elección son reproducidos, como se muestra en la figura (5). Para cada resultado de mercado objetivo (M_i), un resultado de mercado prueba (M_t) es creado, combinando los parámetros entre el resultado del mercado mutado y el objetivo de mercado.

Un resultado de mercado mutado es creado tomando la diferencia entre dos vectores parámetro de resultado de mercado aleatorio (M_a, M_b) antes de añadir un tercer vector aleatorio de resultado de mercado (M_c) en el conjunto de mercados. La presión selectiva es aplicada en el nivel de mercado. La referencia para comparaciones de mercados es el costo total de control de contaminadores esperado de mercado ($E[TCCK]$). Cada recién creado patrón de elecciones M_t tiene que competir y superar al otro en la generación existente para asegurar un lugar en la próxima generación. En otras palabras, cada conjunto de estrategias de los agentes en un mercado en cada generación tiene un competidor para competir. El criterio usado en el algoritmo SDE, para determinar si un resultado de mercado es “bueno” o “malo” es el costo total de control de contaminadores de mercado. En cada generación, la población total de resultados de mercado cambia debido a esta presión selectiva. El hecho que un mercado rinde mejor que otro en términos de costo total de control de contaminadores de mercado es porque la combinación de comportamientos estratégicos entre agentes en ese mercado implica más costo efectivo de decisiones de comercio que aquellos que compiten en el otro mercado. Las poblaciones sucesivas de resultado de mercado representan más comportamientos cooperativos en las interacciones entre agentes los cuales conducen a mejores respuestas de mercado (i.e. costo total de control de contaminadores de mercado esperado en general). Es de destacar, sin embargo, que la cooperación no está modelada explícitamente en este trabajo. Usando SDE para evolucionar un mercado a su equilibrio, es compatible con la descripción de Tesfatsion (TESFATSION and JUDD, 2006) referida a la búsqueda de un entendimiento normativo. La formulación de nivel-mercado requiere la solución de la optimización completa del problema dentro de un panorama multimodal y estocástico.

3.2.3 Algoritmo modificado diferencial evolutivo (MDE)

Para comprender las dinámicas de las interacciones en presencia de comportamientos menos cooperativos, el algoritmo MDE es desarrollado en base al fundamento económico de los intereses propios de los agentes y por tanto tienden a actuar estratégicamente de tal forma que ellos pueden extraer los mayores beneficios para ellos mismos ignorando si será socialmente óptimo. La figura (6) brinda una ilustración de cómo MDE trabaja para retratar el caso de cooperaciones menores entre intereses propios de agentes individuales. El proceso de reproducción artificial de nuevos mercados competidores es el mismo que en el algoritmo SDE. Nuevos agentes constituyen nuevos mercados y son creados por los operadores de cruce y mutación. El operador de selección, sin embargo, es aplicado al nivel del agente. La referencia de comparación entre un comprador en mercado M_i el mismo comprador en el mercado competidor M_t es el costo total de control de contaminadores esperado del comprador ($E[BTC_i]$). Para vendedores, el beneficio esperado ($E[SP_j]$) es usado como criterio de selección.

Si un comprador en el mercado de prueba incurre un menor control de costo esperado que el mismo comprador en el mercado objetivo, entonces el comprador en el mercado de prueba es elegido para estar en la próxima generación. De manera similar, si un vendedor en el resultado de mercado de prueba hace un beneficio mayor esperado que el mismo vendedor en el mercado objetivo, el vendedor en el mercado de prueba es colocado en la próxima generación. Los agentes sobrevivientes del resultado de mercado objetivo M_i y/o el resultado de mercado de prueba M_t son reorganizados en un nuevo resultado de mercado (M_{new}) para la próxima generación. El nuevo resultado de mercado M_{new} incluye los agentes que adoptaron estrategias de comercio que provocan los más bajos costos individuales de control de contaminadores en el caso de compradores o el mayor beneficio individual en el caso de los vendedores. Los agentes en cada nuevo mercado están autorizados a interactuar de acuerdo al protocolo bilateral detallado anteriormente. La evolución del mercado es impulsada por la reorganización de los individuos más aptos dentro de las próximas generaciones aunque los agentes más aptos juntos no podrían constituir un mercado que es el más rentable. La evolución del mercado modelado en este sentido destaca la naturaleza individualista de los participantes del mercado y su actitud cooperativa, minimizando costos individuales y maximizando los beneficios individuales, estos son los motores para compradores y vendedores y no la meta de minimizar el costo total general de control de contaminadores del mercado.

3.3 Test de simulación

Una especificación de un objetivo ambiental es equivalente a una especificación de los requisitos de reducción por fuentes puntuales individuales. La distribución de obligaciones de reducción individual no es elegida de manera óptima sino experimentalmente.

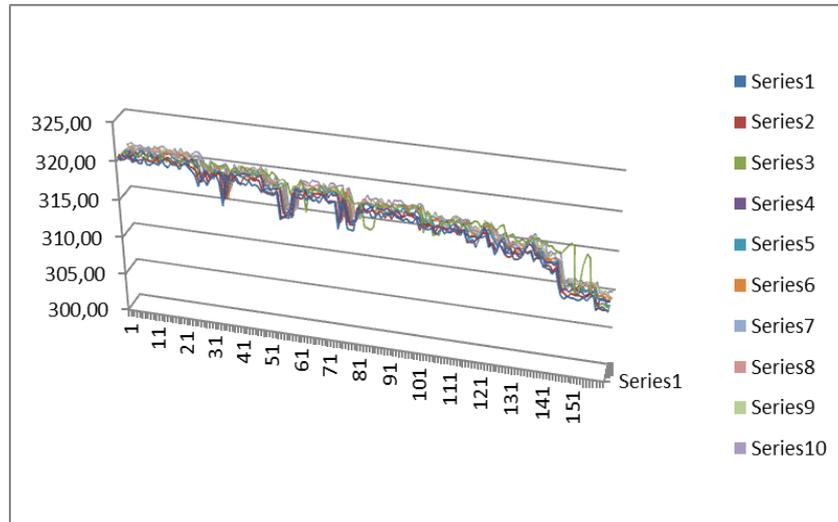


Figura 3: Simulaciones generadas mediante el algoritmo SDE

Se supone que los grandes contaminadores son sujetos a mayores regulaciones, por lo tanto, el mayor requerimiento de reducción, Asimismo, los contaminadores más pequeños están obligados a reducir un nivel más bajo de emisiones.

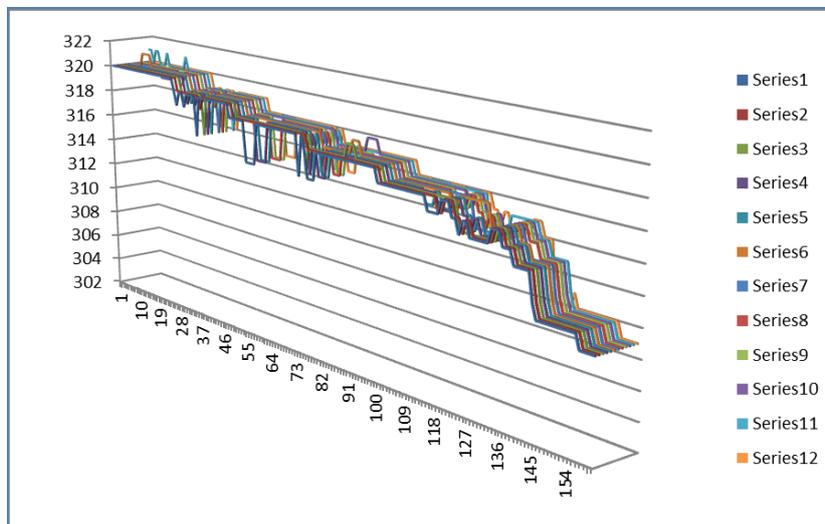


Figura 4: Simulaciones generadas mediante el algoritmo MDE

La evolución del mercado a su “mejor conocido” equilibrio es simulada en este trabajo por el uso del algoritmo diferencial simple y su versión modificada (SDE y MDE). La evolución del mercado a su “mejor conocido” equilibrio es simulada en este trabajo por el uso del algoritmo diferencial simple y su versión modificada (SDE y MDE). Los algoritmos genéticos son aplicados a la población de soluciones iniciales para cada conjunto de parámetros de mercado, implican algún patrón cooperativo en las interacciones entre agentes.

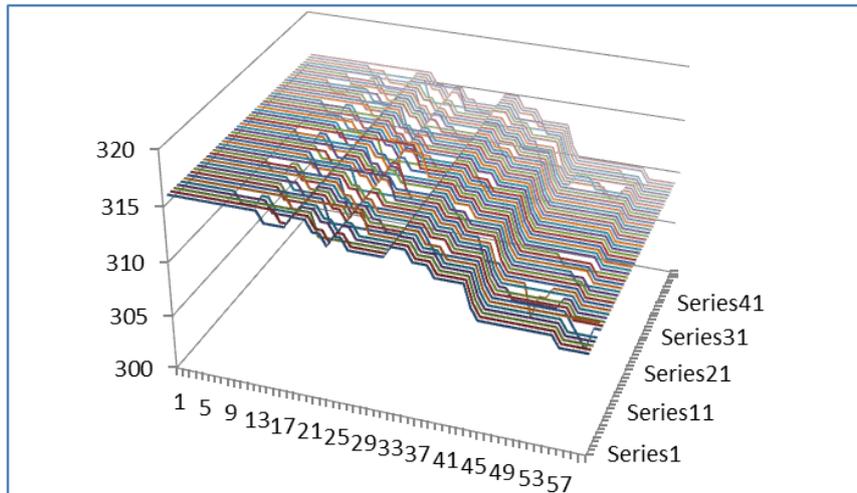


Figura 5: Distintos puntos de equilibrios obtenidos mediante el algoritmo MDE

Cada algoritmo, por lo tanto, provee un mapa separado de evolución de equilibrio de mercado y constituye un tratamiento experimental. Los dos tratamientos para los algoritmos evolutivos usados son Evolución Diferencial Standard (SDE) y Evolución Diferencial Modificada (MDE). Para facilitar la comprensión de esta dinámica, las salidas de los experimentos computacionales son, mostrados en las Figuras (3), (4) y (5). Los dos procesos evolutivos del mercado a su equilibrio son considerados para 10 series de datos (SDE) y luego para 12 series y finalmente para 50 series (MDE).

4. Conclusiones y perspectivas

La evolución del mercado en equilibrio de calidad de agua es un gran desafío dada las significantes incertidumbres y relaciones no lineales entre resultados de mercado y las interacciones de los agentes en el mercado. La identificación del equilibrio robusto requiere de la solución de problemas de optimización de alta-dimensión, dentro de un problema no lineal y un escenario de costo estocástico. El comportamiento de los agentes es no trivial y en consecuencia es de esperar que muchas configuraciones iniciales de mercados fallen al intentar alcanzar un equilibrio robusto. Las simulaciones desarrolladas con los algoritmos SDE y MDE presentan una disminución del costo total en el control de la contaminación a partir de un número de interacciones y parecen converger a un promedio estadístico, luego de generar un número elevado de series de datos (50 series de datos), también se puede apreciar que el algoritmo MDE resulta de mejor desempeño que el SDE. Por ello se utiliza este para generar un mayor número de series.

Tengamos en cuenta que los individuos, además de maximizar su utilidad conforme a su interés particular, pueden mostrar distintas motivaciones sociales como la cooperación, la competición, la aversión a la inequidad y altruismo. Así, en determinadas circunstancias, como en este caso de estudio, puede ser relevante la aparición de una masa crítica de individuos que presenten una actitud cooperativa, a partir de la cual cada individuo que se decida a adoptar una actitud cooperativa haga que el bienestar general aumente. En estos tipos de modelos evolutivos, la racionalidad de los agentes económicos se manifiesta en la adopción de estrategias en la base de prueba y error (no repetir comportamientos con malos resultados) e imitación (copiar las estrategias exitosas de los demás agentes), si bien los agentes económicos artificiales diseñados, no tienen un comportamiento estrictamente racional, la población aprende cual es el equilibrio racional en la medida que desarrolla un proceso evolutivo, en este sentido el proceso evolutivamente estable es un equilibrio de Nash.

El concepto de estrategia evolutivamente estable establece una relación directa entre el payoff de una estrategia y la manera en que ésta se propaga en la población, es decir, el resultado del juego representa una ganancia (o pérdida) en términos de fitness para el jugador y la estrategia se transmite por herencia a su progenie. Sin embargo, la definición de estrategia evolutivamente estable no nos dice nada acerca de cómo se llega a tal situación de equilibrio. El concepto de mercado en equilibrio en este trabajo no debe ser interpretado en el sentido tradicional como un óptimo general. En lugar de eso, el mercado en equilibrio es el resultado “mejor conocido” que resulta “robusto” a las interacciones de los agentes bajo la presencia de incertidumbres de información, racionalidad limitada, decisiones complejas y reglas de comercialización implícitas en la estructura bilateral del mercado analizado. En futuros trabajos se incorporarán a estos modelos desarrollados, parámetros y variables medioambientales de nuestra zona, a fin de poder validar las simulaciones con datos de la realidad local y estudiar la problemática de un modo acorde a nuestra región.

Agradecimientos

Los autores quieren expresar su agradecimiento a la Pontificia Universidad Católica Argentina y a la Facultad de Química e Ingeniería del Rosario por financiar este proyecto de investigación y además al Profesor PhD Guillermo Marshall, Director del Laboratorio de Sistemas Complejos, dependiente del Departamento de Computación de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires, por facilitarnos el acceso al mencionado laboratorio, con el fin de correr algunas de las simulaciones generadas.

Referencias

- 1) BINMORE, Ken, **Games Theory. A very short introduction**, Ed. OXFORD University Press, New York, USA, 2007.
- 2) COLLENTINE, D., **Including Non-point Sources in a Water Quality Trading Permit Program**, Water Science & Technology, Vol. 51, No. 3-4, 2005, pp. 47-53, IWA Publishing.
- 3) DIXIT, Ken, **Optimization in Economic Theory**, Ed. OXFORD University Press, New York, USA, 1990.
- 4) DORFMAN, R., and JACOBY, H.D., **A Model of Public Decisions Illustrated by a Water Pollution Policy Problem**, Public Expenditures and Policy Analysis. Markham Publishing Co, 1970. in Haveman, R.H. and Margolis, J. (eds.)
- 5) FOLEY, J. and HAIMES, Y.Y., **Multilevel Control of Multi-pollutant Systems**, J. ASCE, Environmental Engineering Division, Vol. 99, No. EE3, June 1973, pp. 253-268.
- 6) HAIMES Y.Y., **Decomposition and Multilevel Techniques for Water Quality Control**, Water Resources Research, Vol. 8, No. 3, June, 1972, pp. 779-784.
- 7) HAIMES, Y.Y., FOLEY, J., and YU, W., **Computational Results for Water Pollution Taxation Using Multilevel Approach**, Water Resources Bulletin, Vol. 8, No. 4, 1972, pp. 761-772.
- 8) HAIMES, Y.Y., KAPLAN M.A., and HUSAR, M.A. Jr., **A Multilevel Approach to Determining Optimal Taxation for the Abatement of Water Pollution**, Water Resources Research, Vol. 8, No. 4, August 1972, pp. 851-860.
- 9) KENDRICK, D.A., RAO, H.S., and WELLS, C.H., **Water quality regulation with multiple polluters**, In Proc. 1971 Jt. Automatic Control Conf., Washington U., St. Louis, August 11-13 1971.
- 10) NGUYEN, Nga P., **A Stochastic Agent-Based Market Model for Water Quality Trading using Evolutionary Simulation Techniques**, Ph. D. Thesis, University of Pennsylvania, Pennsylvania, EEUU, 2009.
- 11) NGUYEN, N., SHORTLE, J., REED, P., and NGUYEN, T.T., **How well do water quality trading markets work with asymmetric information, uncertainty and transaction costs?**, Nov.24,2013, Global Water Forum: www.globalwaterforum.org
- 12) OSTROM, E., GARDNER, R., and WALKER J., **Rules, Games, and Common-pool Resources**, Ed. The University of Michigan Press, Michigan, USA, 2006.
- 13) PRICE, K.V., and STORN, R.M., **Differential Evolution. A practical Approach to Global Optimization**, Ed. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2005.
- 14) SOLOW, R.M., **The economist's approach to pollution and its control**, Science, 173(3996), 1971.
- 15) SHORTLE, J.S., and ABLER, D.G., **Environmental Policies for agricultural pollution control**, Ed. CABI Publishing, New York, USA, 1993.
- 16) TESFATSION Leigh and JUDD Kenneth L., **Handbook of Computational Economics, Volume 2: Agent-based Computational Economics**, Ed. Elsevier, The Netherlands, 2006.
- 17) TIETENBERG, T., and LEWIS L., **Environmental and Natural Resource Economics**, 10th Edition, Ed. Pearson Education, New York, USA, 2015.
- 18) VARAIYA Pravin, **Lecture Notes on Optimization**, Ed. University of Berkeley, California, USA, 2007.

Caracterización de los mecanismos de fitorremediación de *Salvinia* sp. frente a la exposición a metales pesados y su impacto sobre la fisiología vegetal.

Wendi Llatance Oyarce^{1,2}, Julia Emiliani¹, Daniela Bergara¹, Lucas Salvatierra^{1,3}, Leonardo Pérez^{1,3}

¹ Grupo de Biotecnología de Materiales y Medioambiente (Bio&TecMA), Depto. de Investigación Institucional, Facultad de Química e Ingeniería del Rosario, Pontificia Universidad Católica Argentina (UCA), Rosario, Argentina.

² Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas (UNTRM), Chachapoyas, Perú.

³ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva, Argentina.

Resumen:

Los metales pesados son ampliamente reconocidos como uno de los contaminantes más relevantes en aguas residuales industriales, principalmente debido a sus elevados tiempos de residencia, ya que a diferencia de los contaminantes de tipo orgánico, estas sustancias no pueden ser química ni biológicamente degradadas. La fitorremediación es una de las aplicaciones biotecnológicas más difundidas a nivel global, que consiste en la utilización de biomasa vegetal para adsorber y/o acumular una gran variedad de contaminantes químicos presentes en el suelo, el agua o el aire. En el presente trabajo, se evaluó la capacidad de macrófitas acuáticas autóctonas del género *Salvinia* para remover, en forma independiente, iguales concentraciones (50 ± 2 y 100 ± 1 μM) de Cadmio (Cd), Cobre (Cu), Plomo (Pb) o Zinc (Zn) en muestras de agua contaminada artificialmente, durante 48 h. Paralelamente, se analizó el efecto fitotóxico de la exposición a estos metales sobre la fisiología de las plantas. Nuestros resultados demostraron que *S. biloba* posee la capacidad para bioconcentrar los metales ensayados con diferente afinidad. Además, los mecanismos de captación y desintoxicación fueron distintos para cada metal, resultando mayor la eficiencia de remoción para Cu y Pb, respecto de la hallada para Cd y para Zn. Por su parte, los parámetros fisiológicos analizados en las hojas flotantes de *S. biloba* resultaron diferencialmente afectados, demostrando que los mecanismos de respuesta desarrollados por estas macrófitas son diferentes para cada uno de los metales analizados.

Palabras claves: Fitorremediación, metales pesados, cadmio, cobre, plomo, zinc, macrófitas autóctonas, *Salvinia* sp.

Abstract:

Heavy metals are highly recognized as pollutants in industrial wastewater mainly due to their long residence times since these substances cannot be chemically or biologically degraded. Phytoremediation is one of the most widespread biotechnological applications worldwide, which consists in the use of plant biomass to adsorb or accumulate a wide range of chemical contaminants from soil, water or air. In the present work, we have evaluated the capacity of native aquatic macrophytes of the genus *Salvinia* to independently remove equal concentrations (50 ± 2 and 100 ± 1 μM) of Cadmium (Cd), Copper (Cu), Lead (Pb) or Zinc (Zn) from artificially contaminated water samples during 48 h. Additionally, heavy metals phytotoxicity in floating leaves of *Salvinia* specimens were also evaluated. Our results showed that *Salvinia* sp. were able to bioconcentrate all the metals analyzed with different affinity. In addition, the mechanisms of uptake and detoxification were different for each metal, resulting in a greater removal efficiency for Cu and Pb, compared to the found for Cd and Zn. On the other hand, physiological parameters of floating leaves were differentially affected, demonstrating that different response mechanisms are developed by *Salvinia* sp. to counteract the toxicological effect during heavy metals phytoremediation.

Keywords: Phytoremediation, heavy metals, cadmium, copper, lead, zinc, autochthonous free-floating macrophytes, *Salvinia* sp.

1. Introducción

La contaminación ambiental con metales pesados es un problema vigente a nivel global ocasionado por el constante crecimiento de la industrialización y la urbanización. Uno de los problemas más relevantes de la contaminación con metales pesados es su persistencia en el ambiente dada su naturaleza no biodegradable (Azimi y col, 2017). Por lo tanto, la eliminación de estas sustancias en los depósitos de agua dulce debe ser abordada con estrategias seguras y eficientes, sobre todo para aquellas sustancias asociadas con un importante grado de ecotoxicidad y elevada capacidad para acumularse en los organismos vivos, tales como el mercurio (Hg), el cadmio (Cd), el cromo (Cr), el arsénico (As) y el plomo (Pb) (Pourrut y col, 2011; Alloway, 2013; Mishra y col, 2014; Li y col, 2015; Wang y col, 2015). Por el contrario, otros elementos metálicos tales como el manganeso (Mn), níquel (Ni), cobre (Cu), hierro (Fe) y Zinc (Zn) son

micronutrientes (*i.e.*, elementos esenciales para el metabolismo de los organismos vivos); sin embargo, cuando están presentes en concentraciones elevadas o su exposición es prolongada, también pueden inducir efectos nocivos, tanto en plantas como en animales (Efroymsen y col, 1997; Marschner, 1998; Haslett y col, 2001; Rascio y col, 2011; Molinari y col, 2015).

En la actualidad, existen diferentes tecnologías para la eliminación de iones metálicos en aguas residuales e industriales, entre ellas se incluyen métodos tradicionales, tales como la precipitación química, tecnologías de filtración por membranas, extracción con solventes orgánicos, intercambio iónico y procesos de adsorción sobre materiales inertes (Azubuike y col, 2016), y métodos no convencionales como la fitorremediación, siendo esta última una tecnología reconocida por ser más sustentable, económica y especialmente eficiente cuando se aplica a la remediación de grandes volúmenes (Barakat, 2011; Dixit y col., 2015, Azubuike y col, 2016).

En la Argentina, particularmente sobre los márgenes del Río Paraná, existe una extensa y abundante zona de humedales, cuya variada vegetación posee un gran potencial para la captación de contaminantes y que podría utilizarse para la eliminación de diferentes sustancias tóxicas en sistemas artificiales, o como bioindicadores de la contaminación (Wolf y col, 2012; Alonso y col, 2018; Tello Zevallos y col, 2018, Castillo Loría y col, 2019). Por lo tanto, en el presente trabajo se evaluó la capacidad fitorremediadora de macrófitas autóctonas del género *Salvinia* para eliminar Cd, Pb, Cu y Zn en muestras de aguas contaminadas artificialmente con distintas concentraciones de cada metales, en forma independiente. Adicionalmente, se realizaron estudios de compartimentalización con el fin de dilucidar los diferentes mecanismos involucrados en el proceso de remediación y la respuesta fisiológica de las plantas seleccionadas frente al estrés abiótico provocado por la exposición metales pesados.

2. Materiales y Métodos

2.1. Obtención del material vegetal.

Los especímenes de *Salvinia* sp. se colectaron en 3 etapas (durante los meses de Febrero, Marzo y Abril de 2019) a orillas de una laguna localizada en el parador conocido como “Isla Verde”, ubicado entre la playa de “La Florida” y la cabecera del puente Rosario-Victoria (latitud 32°52’35” Sur y longitud 60°40’33” Oeste, Entre Ríos, Argentina), en analogía con otras muestras utilizadas en investigaciones previas del grupo (Tello Zevallos y col, 2018, Castillo Loría y col, 2019). Los mismos se colectaron en un recipiente plástico, junto con agua del sitio para mantener las características de su ambiente. Luego, se trasladaron a la planta piloto de la Facultad de Química e Ingeniería del Rosario (UCA-Rosario), donde fueron lavados con abundante agua de grifo y conservados a temperatura ambiente en peceras de vidrio. Los ensayos experimentales se realizaron en vasos de precipitado de 600 mL, los cuales fueron incubados bajo luz blanca controlando el fotoperíodo de luz/oscuridad ($100 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, 14 h luz y 10 h oscuridad).

2.2. Cuantificación de los metales en la columna de agua.

La concentración residual en la columna de agua de los diferentes metales analizados se realizó por espectroscopia de absorción atómica (EAA) empleando un equipo Varian® AA240FS, según el procedimiento descrito por Castillo Loria y col. (2019). Para cada metal, se realizó previamente una curva de calibración con soluciones patrones de Cd (0,6-3 ppm), Cu (0,4-7 ppm), Pb (1-5 ppm) y Zn (0,075-1,4 ppm) preparadas en agua acidulada (HNO_3 cc. 0,15%).

2.3. Determinación de la capacidad fitorremediadora de *Salvinia* sp.

La capacidad de *Salvinia* sp. para remover cada uno de los metales en forma independiente se evaluó en muestras de agua contaminada artificialmente con 50 ± 2 o $100 \pm 1 \mu\text{M}$ de Cd, Cu, Pb o Zn. Para cada ensayo se utilizaron 5 unidades experimentales compuestas por un grupo “Control” y un grupo “Muestra” para cada uno de los metales. El ensayo experimental fue realizado por duplicado ($n=2$). Cada unidad experimental consistió de 10,0 g de biomasa húmeda -previamente lavada con abundante agua desionizada para eliminar posibles restos de residuos interferentes- y 0,5 L de solución (agua ultra pura para el grupo “Control” o solución de metales para el grupo “Muestra”). La biomasa contenida en las unidades experimentales se mantuvo en el vaso de precipitado durante 48 h, tomándose muestras de la columna de agua a las 0, 2, 4, 6, 10, 24 y 48 h, para evaluar la cantidad de metal remanente según el procedimiento descrito en el apartado 2.2.

2.4 Cuantificación del metal adsorbido en la biomasa vegetal.

El contenido de metal en la biomasa se determinó de acuerdo al procedimiento descrito por Tello Zevallos y col. (2018) con leves modificaciones. Brevemente, a cada tiempo de exposición se retiró la biomasa y se realizó un lavado con 0,5 L de solución de EDTA (1,7 mM) durante 1 h con agitación orbital (180 rpm) con el objetivo de secuestrar por complejación el metal adsorbido superficialmente a las raíces de las plantas. Finalizada la agitación, se lavó la biomasa con abundante agua desionizada, se la dejó escurrir durante 5 min, y a continuación se la dejó reposar durante 15 min sobre papel absorbente con la finalidad de eliminar el exceso de humedad en la parte externa del tejido. El contenido de metal en el agua de lavado fue cuantificado por EAA (sección 2.2.2).

2.5 Cuantificación del metal acumulado intracelularmente.

La cantidad de metal acumulado intracelularmente se determinó sobre una porción de material vegetal (separadamente, raíces y hojas) previamente secada en estufa a 70°C durante 24 h. Para ello, a 50,0 mg de biomasa seca triturada se le adiciono 1,0 mL de HNO₃ cc. Posteriormente, la muestra se colocó en un bloque de digestión bajo una campana de extracción, y se calentó a 120°C durante 3 h hasta observar la desaparición de vapores pardos. El contenido del metal intracelular en cada una de las muestras digeridas fue analizado por EAA (sección 2.2.2).

2.6 Determinación de parámetros fisiológicos.

Para determinar la tolerancia de *Salvinia* sp. frente al tratamiento con los distintos metales se evaluaron diferentes parámetros fisiológicos en las hojas flotantes de las plantas, luego de 48 h de exposición a 50±2 o 100±1 µM de cada metal.

2.6.1. Cuantificación del contenido de pigmentos fotosintéticos.

La extracción de pigmentos fotosintéticos se llevó a cabo macerando 0,1 g de muestra con 1,0 mL de etanol 96% (v/v) durante 24 h en oscuridad a temperatura ambiente para permitir su completa extracción. A continuación, se centrifugó la solución a 2.500xg durante 10 min, y se determinó la concentración de clorofilas (*a*, *b* y total) midiendo la absorbancia del sobrenadante a 649 y 665 nm, y el contenido de carotenoides (carotenos y xantófilas) a 480 nm, empleando un espectrofotómetro UV/Vis (Perkin Elmer® Lambda 25). El contenido de pigmentos fotosintéticos se calculó mediante las ecuaciones propuestas por Wintermans y De Mots (1965):

$$\text{Chl}_a (\mu\text{g/mL}) = 12,19(A_{665}) - 3,45(A_{649})$$

$$\text{Chl}_b (\mu\text{g/mL}) = 21,99(A_{649}) - 5,32(A_{665})$$

Donde,

12,63 y 3,45 = coeficientes de extinción (ϵ) de la clorofila *a* para 665 nm (ϵ_{665}) y 649 nm (ϵ_{649}).

21,99 y 5,32 = coeficientes de extinción (ϵ) de la clorofila *b* para 649 nm (ϵ_{649}) y 665 nm (ϵ_{665}).

$$\text{Chl}_{total} (\mu\text{g/mL}) = \text{Chl}_a + \text{Chl}_b$$

$$\text{Carotenoides} (\mu\text{g/mL}) = [(1000A_{480} - 2,14[\text{Chl}_a]) - 70,16[\text{Chl}_b]]/220$$

2.6.2. Cuantificación de antocianinas.

Se empleó el procedimiento descrito por Bizzo y col (2014). Para ello, se adicionaron 5,0 mL de una solución de metanol y ácido clorhídrico 99:1 (v/v) sobre 50,0 mg de muestra, y se incubó en oscuridad por 24 h. Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 2.500xg durante 10 min y se midió la absorbancia del sobrenadante a 550 nm utilizando un espectrofotómetro UV/Vis (Perkin Elmer® Lambda 25). Para el cálculo de la concentración de antocianinas se utilizó un coeficiente de extinción molar (ϵ) igual a 33.000 mol⁻¹ cm⁻¹.

2.6.3. Determinación de flavonoides.

La extracción de flavonoides totales se realizó mediante el tratamiento de 50,0 mg de muestra con N₂ líquido, seguido de una primera extracción con 0,6 mL de metanol ácido (HCl 1% (v/v) en metanol), y posterior incubación durante 8 h en oscuridad, a temperatura ambiente. Luego, se realizó una segunda extracción con 1,2 ml de cloroformo y 0,6 mL de agua desionizada. La solución resultante se centrifugó a 4.500xg durante 2 min, descartándose la fase orgánica. Finalmente, se midió la absorbancia de la fase a 312 y 530 nm (Casati y Walbot, 2005), utilizando un espectrofotómetro UV/Vis (Perkin Elmer® Lambda 25).

2.6.4. Cuantificación de carbohidratos solubles.

Se utilizó el método propuesto por Bizzo y col (2014). Brevemente, se mezclaron 0,1 g de biomasa triturada con 2 mL de metanol (80%). Luego, las muestras se calentaron a 70°C durante 30 min. Una vez a temperatura ambiente, se tomó 1,0 mL del extracto y se mezcló con 1,0 mL de Fenol (5%) y 5 mL de ácido sulfúrico (95%). Posteriormente, la mezcla se dejó reposar durante 1 h a temperatura ambiente y se midió la absorbancia de la muestra a 640 nm empleando un espectrofotómetro UV/Vis (Perkin Elmer® Lambda 25).

2.7. Análisis estadístico.

Se empleó el programa SigmaStat 3.5 (Systat Software Inc., Estados Unidos). Los datos experimentales fueron analizados aplicando el *test* de ANOVA (análisis de la variancia). Cuando el efecto de los factores estudiados fue significativo ($p < 0,05$) se aplicó la prueba *Honestly Significant Difference* (HSD) de *Tukey* para efectuar comparaciones múltiples con un nivel de confianza del 95 %.

3. Resultados y Discusión

3.1 Evaluación de la capacidad de eliminación de metales pesados utilizando *Salvinia* sp.

La capacidad de *Salvinia* para eliminar Cd, Pb, Cu y Zn en muestras de agua contaminadas artificialmente con 50 ± 2 o $100 \pm 1 \mu\text{M}$ de cada metal, en forma independiente, se determinó cuantificando la concentración residual de cada ión en la columna de agua a distintos tiempos de exposición. Como puede observarse en la Tabla 1, el porcentaje de remoción alcanzó valores de $76 \pm 7\%$ y $90 \pm 2\%$ en las primeras 6 h para $50 \pm 2 \mu\text{M}$ de Cu y Pb, respectivamente. Durante el mismo período de tiempo (6 h), y a la misma concentración inicial (50 ± 2), los porcentajes de eliminación disminuyeron significativamente para Cd y para Zn, alcanzando valores cercanos al 60%. Al finalizar el ensayo (48 h), tanto el Cu como el Pb fueron completamente removidos de la columna de agua (remoción $\geq 99\%$). Sin embargo, en idénticas condiciones, el % de eliminación no superó el 80% para Cd y Zn. Al duplicar la concentración de exposición ($100 \pm 1 \mu\text{M}$), la eficiencia de remoción de las plantas fue similar para Cu y para Pb, mostrando mayores dificultades para la eliminación de Cd y Zn. A su vez, es notable observar la elevada eficiencia de estas macrófitas para remover casi el 100% del Cu y del Pb durante las primeras 24 h, aún a la concentración más alta analizada, demostrando una elevada capacidad de *Salvinia* sp. para bio-concentrar estos iones.

Adicionalmente, la cinética no lineal de desaparición observada en la Figura 1, para ambas concentraciones de los distintos metales analizados, sugiere que *Salvinia* sp. utiliza diferentes mecanismos para la remoción de metales divalentes en aguas contaminadas.

Cabe mencionar también que no se detectaron cantidades considerables de ninguno de los metales en la columna de agua para el grupo "Control", demostrando la ausencia de contaminación previa o externa.

Tabla 1. Porcentajes de remoción para Cd, Cu, Pb y Zn a distintos tiempos y concentración de exposición en sistemas en *batch* operados con *Salvinia* sp.

Tiempo de exposición (h)	$50 \pm 2 \mu\text{M}$				$100 \pm 1 \mu\text{M}$			
	[Cd]	[Cu]	[Pb]	[Zn]	[Cd]	[Cu]	[Pb]	[Zn]
0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	27 ± 2	46 ± 9	50 ± 17	29 ± 1	19 ± 1	42 ± 29	66 ± 1	15 ± 1
4	52 ± 2	62 ± 6	82 ± 1	49 ± 1	25 ± 6	66 ± 10	81 ± 3	33 ± 4
6	56 ± 6	76 ± 7	90 ± 2	51 ± 1	30 ± 7	77 ± 11	86 ± 1	42 ± 7
10	69 ± 3	90 ± 8	94 ± 1	67 ± 7	37 ± 3	84 ± 9	97 ± 1	59 ± 1
24	72 ± 1	98 ± 2	96 ± 1	72 ± 3	50 ± 4	99 ± 1	99 ± 1	69 ± 3
48	79 ± 4	99 ± 1	97 ± 2	77 ± 5	56 ± 2	100 ± 1	99 ± 1	70 ± 4

Los valores informados en la tabla representan el promedio \pm SE ($n=2$).

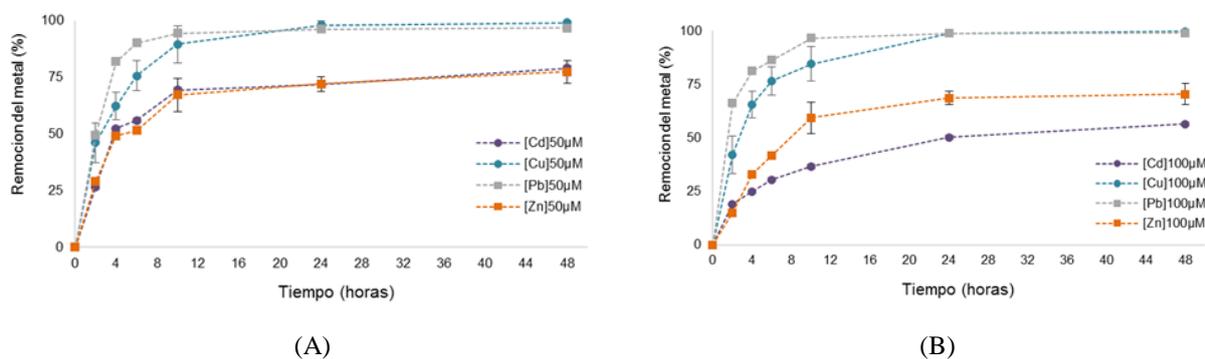


Figura 1. Cinéticas de eliminación de metales divalentes en la columna de agua, a distintos tiempos y concentración: (A) $50 \pm 2 \mu\text{M}$ y (B) $100 \pm 1 \mu\text{M}$. Los valores representan el promedio \pm SE ($n=2$).

3.2. Análisis de compartimentalización

Con el fin de avanzar en el entendimiento de los diferentes mecanismos involucrados en la eliminación de metales pesados por *Salvinia* sp., se evaluó la distribución del metal en la planta a través de un análisis de

compartimentalización (Olguín y col, 2005). Para ello, se definieron tres destinos o “compartimentos” donde encontrar al metal: 1) adsorbido superficialmente a la biomasa, 2) acumulado intracelularmente en la biomasa total (sin discernir entre raíces y hojas flotantes) y, 3) remanente en la columna de agua. En la Figura 2 se muestra la distribución de cada metal en los diferentes compartimentos de la planta luego de finalizado el proceso de remediación (48 h). Como puede observarse, la mayor cantidad de los cuatro metales analizados se encuentra acumulada intracelularmente, para ambas concentraciones. Sin embargo, los porcentajes de acumulación fueron muy diferentes según el metal y la concentración inicial (C_i) a la que fue expuesta la planta, mostrando mayores niveles de acumulación a medida que aumenta la C_i del metal en la solución.

El porcentaje de metal adsorbido superficialmente también mostró un incremento conforme el aumento en la C_i ; sin embargo, a las 48 h, los niveles de adsorción fueron menores en relación al porcentaje acumulado intracelularmente. Estos resultados indican que la cantidad de metal acumulado y adsorbido por *Salvinia* sp. parece estar afectada positivamente por la C_i del metal, incrementándose a medida que se eleva la concentración del contaminante en la solución.

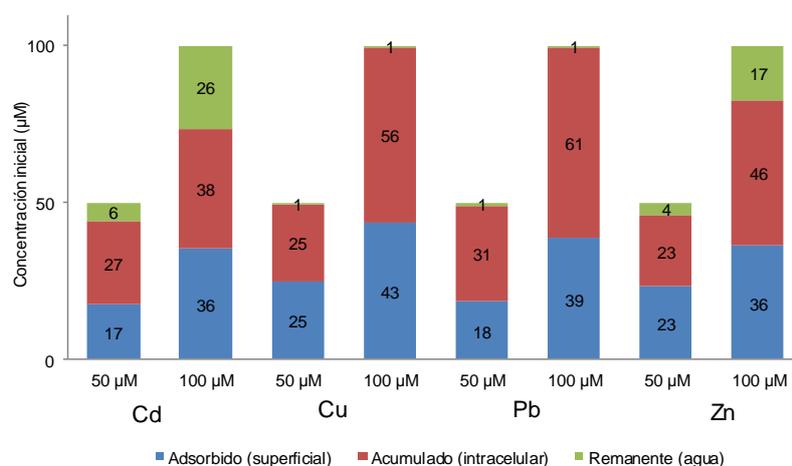


Figura 2. Distribución de Cd, Cu, Pb y Zn en los tres compartimentos definidos para *Salvinia* sp. luego de (48 h) de exposición a distintas C_i de cada metal, en forma independiente. Las barras representan el promedio \pm SE ($n=2$).

En general, los iones metálicos penetran en las plantas principalmente a través del sistema radicular en donde la mayor cantidad del metal se encuentra unido a la pared celular (Samardakiewicz y Wozny, 2000, Antosiewicz, 2005). En ésta, los polisacáridos celulosa, lignina y hemicelulosa juegan un rol esencial en la complejación de los metales (Seregin e Ivanov, 2001, Gardea y col., 2004, Marmioli y col., 2005, Polec y col., 2007). Adicionalmente, Olguín y col. (2005) han sugerido que la acumulación intracelular de algunos metales divalentes, como el Pb, en *Salvinia minima* podría ocurrir a través de calcio. Sin embargo, aún se necesitan más evidencias experimentales que sustenten esta hipótesis.

Por otro lado, la alta capacidad de *Salvinia* sp. para acumular metales podría atribuirse, además del contenido de carbohidratos de su raíz, a la síntesis de proteínas con grupos tiol. En un estudio llevado a cabo por Estrella-Gómez y col. (2009), estos autores reportaron que el Pb induce la producción de fitoquelatinas en *Salvinia minima* Baker y que tales proteínas podrían estar involucradas en procesos de desintoxicación como parte de un mecanismo de tolerancia al metal desarrollado por esta planta. Más aún, las fitoquelatinas serían responsables de captar y complejar al metal permitiendo su almacenamiento en vacuolas y compartimentos intracelulares.

Si bien, aún se necesitan más estudios que permitan dilucidar, a nivel molecular, la complejidad de los mecanismos involucrados en la captación de metales por plantas acuáticas del género *Salvinia*, nuestros resultados son consistentes con reportes previos que indican a la adsorción superficial y a la acumulación intracelular como dos de los mecanismos principales.

3.3. Fitotoxicidad de metales pesados en plantas del género *Salvinia* sp.

Los efectos fitotóxicos observados en la biomasa de *Salvinia* sp. luego de su exposición a diferentes concentraciones de Cd, Cu, Pb y Zn se muestran en la Figura 3. Como se puede apreciar, luego de 48 h de exposición a 100 ± 1 µM de los diferentes metales, analizados en forma independiente, se pudo evidenciar mediante inspección visual de los especímenes algunos claros síntomas de fitotoxicidad, tales como la necrosis de sus hojas, la desintegración parcial de

las raíces sumergidas en la solución y la pérdida de turgencia.

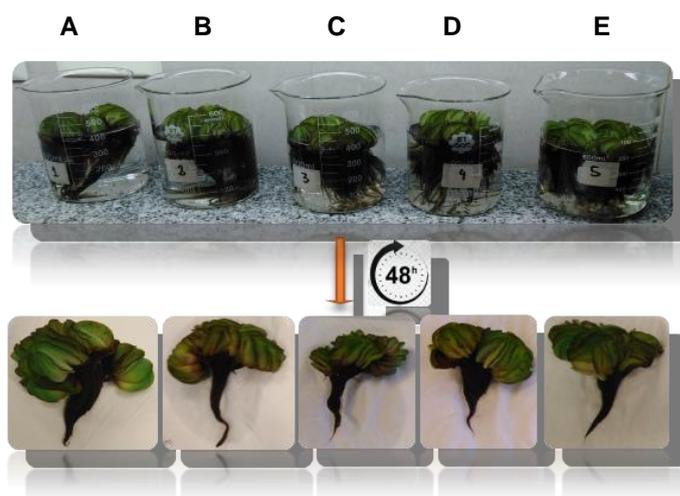


Figura 3. Fotografías ilustrativas de los cambios observados en la biomasa de *Salvinia* sp expuesta durante 48 h a: a) agua desionizada (grupo “Control”); B) Cd ($100\pm 1 \mu\text{M}$); C) Cu ($100\pm 1 \mu\text{M}$); D) Pb ($100\pm 1 \mu\text{M}$); E) Zn ($100\pm 1 \mu\text{M}$).

Si bien, en algunos casos, estas observaciones se correlacionaron parcialmente con alteraciones en la concentración de pigmentos fotosintéticos, compuestos antioxidantes y carbohidratos solubles en las hojas flotantes de las plantas, no se pudo evidenciar un patrón generalizado de fitotoxicidad para los cuatro metales analizados.

Como puede observarse en la Tabla 2, el contenido de clorofila *a*, clorofila *b* y carotenoides se vio diferencialmente afectado según el metal al que fueron expuestas las plantas. La clorofilas *a*, *b* y total resultaron ser los parámetros fisiológicos más afectados luego de la exposición durante 48 h a Cu y Pb, evidenciando una disminución significativa ($p < 0,075$) a la mayor concentración ensayada. Sin embargo, no se observaron variaciones significativas en los valores de carotenoides (Car) para todos los grupos, excepto a una concentración de $100\pm 1 \mu\text{M}$ de Cu, donde el contenido de estos compuestos disminuyó respecto al grupo “Control”.

Por su parte, no se evidenciaron cambios en la concentración de compuestos fenólicos (flavonoides y antocianinas) frente a la exposición a metales pesados. Estos compuestos son metabolitos secundarios derivados de los aminoácidos fenilalanina y tirosina, y se encuentran distribuidos de forma ubicua en las plantas (Kähkönen y col, 1999, Kovasik y col, 2015). Estudios recientes han sugerido que pueden actuar como agentes quelantes de iones metálicos y también como moléculas antioxidantes para eliminar radicales libres, ayudando a la protección de las células frente al estrés oxidativo (Mierziak y col, 2014). Sin embargo, en este estudio, la concentración de flavonoides y antocianinas no mostró cambios significativos frente al ocasional estrés provocado por la exposición a metales, respecto del grupo control. Estos resultados podrían indicarnos que, en las condiciones experimentales ensayadas, no se estaría generando un estrés oxidativo suficientemente importante para disparar un incremento en la acumulación de los pigmentos antioxidantes, o bien, que la detoxificación de las especies reactivas del oxígeno (EROs) procedería por otra ruta metabólica. Más ensayos son necesarios para poder confirmar algunas de estas hipótesis.

Finalmente se analizaron los niveles de carbohidratos solubles observando un aumento significativo respecto del grupo control únicamente frente a la exposición a Pb ($50\pm 2 \mu\text{M}$), no mostrando variaciones para ninguno de los otros tratamientos.

Tabla 2. Contenido de pigmentos fotosintéticos (clorofila *a*, *b* y carotenoides), antioxidantes y carbohidratos solubles en hojas de *Salvinia* sp. expuestas a 50 ± 2 o $100\pm 1 \mu\text{M}$ de Cd, Pb, Cu o Zn.

Fronδας	Control	Cd _{50μM}	Cd _{100μM}	Cu _{50μM}	Cu _{100μM}	Pb _{50μM}	Pb _{100μM}	Zn _{50μM}	Zn _{100μM}
Chl "a" (μg/g PF)	156 ± 7 ^a	150 ± 16 ^a	160 ± 19 ^a	120 ± 23 ^b	102 ± 16 ^b	149 ± 26 ^a	127 ± 10 ^b	156 ± 11 ^a	169 ± 36 ^a
Chl "b" (μg/g PF)	105 ± 7 ^a	92 ± 8 ^a	99 ± 9 ^a	94 ± 19 ^a	65 ± 9 ^b	94 ± 14 ^a	81 ± 9 ^b	109 ± 14 ^a	105 ± 22 ^a
Chl Total (μg/g PF)	261 ± 14 ^a	242 ± 24 ^a	259 ± 28 ^a	243 ± 54 ^a	167 ± 25 ^b	243 ± 40 ^a	208 ± 18 ^a	265 ± 25 ^a	268 ± 60 ^a
Car (μg/g PF)	34 ± 2 ^a	43 ± 5 ^a	44 ± 5 ^a	45 ± 8 ^a	29 ± 4 ^b	44 ± 11 ^a	37 ± 2 ^a	34 ± 2 ^a	37 ± 6 ^a
Flavonoides (Abs/g PF)	87 ± 7 ^a	99 ± 4 ^a	82 ± 9 ^a	100 ± 10 ^a	64 ± 4 ^a	97 ± 11 ^a	76 ± 7 ^a	101 ± 19 ^a	73 ± 10 ^a
Antocianinas (Abs/g PF)	540 ± 57 ^a	684 ± 85 ^a	555 ± 120 ^a	570 ± 113 ^a	600 ± 40 ^a	703 ± 78 ^a	570 ± 50 ^a	610 ± 60 ^a	581 ± 50 ^a
Carbohidratos (mg/gPF)	38 ± 2 ^a	35 ± 3 ^a	43 ± 7 ^a	41 ± 8 ^a	38 ± 9 ^a	48 ± 2 ^b	37 ± 2 ^a	41 ± 7 ^a	23 ± 3 ^a

Las distintas letras indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,075$) entre los valores promedios \pm SE ($n=2$).

En general, se ha descrito que durante las primeras etapas de un proceso de fitorremediación los iones metálicos se adsorben e incorporan en las raíces de las plantas donde son almacenados mediante la unión a proteínas y/o secuestrados en vacuolas intracelulares. Estos mecanismos restringen su translocación hacia los órganos superiores de la planta (hojas), fotosintéticamente más activos, protegiéndose así del daño provocado por la acumulación de metales pesados. La tolerancia de una planta a un metal específico es controlada por una red interrelacionada de mecanismos moleculares y fisiológicos diferentes que coadyuvan para contrarrestar la fitotoxicidad que produce (Shahid y col, 2018). Sin embargo, una vez que el metal se ha incorporado a nivel intracelular es igualmente capaz de alterar considerablemente los parámetros fisiológicos afectando directamente al metabolismo vegetal (Gardner y Hamdani, 1997, Nichols y col, 2000, Al Hamdani y Blair, 2004).

Estudios previos realizados por diferentes autores han validado la capacidad de diferentes especies del género *Salvinia* sp. para ser utilizadas en el tratamiento de aguas contaminadas con diversos compuestos, incluidos los metales pesados (Aksorn y Visoottiviseth, 2004, Maine y col, 2004, Dhir y col, 2009, Espinoza-Quiñones y col, 2009, González y col, 2014; Prado y col, 2016; Leal-Alvarado, 2016; Tello Zevallos y col, 2018, Castillo Loría y col, 2019; Olivera y col, 2019). Nuestros estudios concuerdan con estos antecedentes, demostrando que especies autóctonas de *Salvinia* sp, obtenidas de ecosistemas locales, también poseen esta capacidad, pudiendo ser introducidas como una herramienta biotecnológica de bajo costo al diseño de sistemas de saneamiento de aguas contaminadas con metales pesados.

4. Conclusiones

Se demostró la capacidad de especímenes autóctonos del género *Salvinia* para bioconcentrar y eliminar Cd, Cu, Pb y Zn. Adicionalmente, las plantas mostraron diferentes afinidades y mecanismos de captación y desintoxicación para cada metal, siendo mayor la eficiencia de remediación para Cu y Pb, respecto de Cd y Zn. Los parámetros fisiológicos de las hojas flotantes de *Salvinia* sp. se vieron relativa y diferencialmente afectados, hecho que sugiere una participación más activa de las raíces de las plantas en el proceso de eliminación de los metales analizados. Tanto el porcentaje de remoción de los cationes divalentes como su grado de toxicidad fueron dependientes de la concentración inicial y del tiempo de exposición. En resumen, nuestros resultados sugieren que la utilización de estas macrófitas para la remediación de sistemas acuáticos contaminados con diferentes iones metálicos es prometedora. Por lo tanto, la incorporación de especímenes locales de *Salvinia* sp. en el diseño de sistemas de tratamiento de efluentes industriales podría ser una estrategia exitosa, y de muy bajo costo, para favorecer la remoción de metales pesados.

Agradecimientos

Los autores agradecen muy especialmente al *Vicerrectorado de Investigación e Innovación Académica* de la Pontificia Universidad Católica Argentina (UCA) por los fondos suministrados para la ejecución de este proyecto. La Ing. Amb. Wendi G. Llatance Oyarce agradece al *Programa Nacional de Becas y Crédito Educativo* (PRONABEC) del Ministerio de Educación de la República del Perú por el apoyo económico recibido para la realización de sus estudios de posgrado.

Referencias bibliográficas

- Alonso, X., Hadad, H.R., Córdoba, C., Polla, W., Reyes, M.S., Fernández, V., y otros. (2018). Macrophytes as potential biomonitors in peri-urban wetlands of the Middle Parana River (Argentina). *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 312-323.
- Aksorn, E., Visoottiviseth, P. (2004). Selection of suitable emergent plants for removal of arsenic from arsenic contaminated water. *ScienceAsia*, 30, 105-113.
- Al-Hamdani, S., y Blair, S.L. (2004). Influence of copper on selected physiological response in *Salvinia minima* and its potential use in copper remediation. *American Fern Journal*, 94, 47-56.
- Alloway, B.J. (2013). Heavy metals in soils, trace metals and metalloids in soils and their bioavailability (3ra ed.). Reading, UK: Springer.
- Antosiewicz, D.M. (2005). Study of calcium-dependent lead-tolerance on plants differing in their level of Ca-deficiency tolerance. *Environmental Pollution*, 134, 23-34.
- Azimi, A., Azari, A., Rezakazemi, M., Ansarpour, M. (2017). Removal of heavy metals from industrial wastewaters: a review. *ChemBioEng. Reviews*, 4, 37-59.

- Azubuiké, C.C., Chikere, C.B., Okpokwasili, G.C. (2016). Bioremediation techniques classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32, 180-198.
- Barakat, M.A. (2011). New trends in removing heavy metals from industrial wastewater. *Arabian Journal of Chemistry*, 4, 361-377.
- Bizzo, A.L., Intorne, A.C., Gomes, P.H., Susuki, M.S., Esteves, B.D. (2014). Short-term physiological responses to copper stress in *Salvinia auriculata* Aubl. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 26, 268-277.
- Casati P, Walbot V, (2005), *Plant Cell & Environment*, 28, 788-799.
- Castillo Loría K., Emiliani J., Herrero M.S., Bergara C.D., Salvatierra L.M., Pérez L.M. (2019). Effect of daily exposure to Pb-contaminated water on *Salvinia biloba* physiology and phytoremediation performance *Aquatic Toxicology*, 210, 158-166.
- Dhir, B. (2009). *Salvinia*: An aquatic fern with potential use in phytoremediation. *Environment & We: An International Journal of Science and Technology*, 4, 23-27.
- Dixit, R., Wasiullah, Malaviya, D., Pandiyan, K., Singh, U.B., Sahu, A., Shukla, R., Singh, B.P., Rai, J.P., Sharma, P.K., Lade, H., Paul, D. (2015). Bioremediation of Heavy Metals from Soil and Aquatic Environment: An Overview of Principles and Criteria of Fundamental Processes. *Sustainability*, 7, 2189-2212.
- Efroymson, R.A., Will, M.E., Suter, G.W., Wooten, A.C. (1997). Toxicological Benchmarks for Screening Contaminants of Potential Concern for Effects on Terrestrial Plants, Oak Ridge National Laboratory, Environmental Sciences Division.
- Espinoza-Quiñones, F.R., Da Silva, E.A., de Almeida Rizzutto, M., Palácio, S.M., Módenes, A.N., Szymanski, N., Alexander, N.M., Kroumov, A.D. (2008). Chromium ions phytoaccumulation by three floating aquatic macrophytes from a nutrient medium. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, 3063-3070.
- Estrella-Gómez, N., Mendoza, D., Moreno, R., González, D., Zapata, O., Martínez, A., Santamaría, J.M. (2009). The Pb-hyperaccumulator aquatic fern *Salvinia minima* Baker, responds to Pb²⁺ by increasing phytochelatin synthase activity. *Aquatic Toxicology*, 91, 320-328.
- Gardea, J.L., De la Rosa, G., Peralta, J.R. (2004). Use of phytofiltration technologies in the removal of heavy metals: A review. *Pure and Applied Chemistry*, 76, 801-813.
- Gardner, J.L. y Al-Hamdani, S.H. (1997). Interactive Effects of Aluminium and Humic Substances on *Salvinia*. *Journal of Aquatic Plant Management*, 35, 30-34.
- González, C.I., Maine, M.A., Cazenave, J., Sanchez, G.C., Benavides, M.P. (2014). Physiological and biochemical responses of *Eichhornia crassipes* exposed to Cr (III). *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 3739-3747.
- Haslett, B.S., Reid, R.J., Rengel, Z. (2001). Zinc mobility in wheat: uptake and distribution of zinc applied to leaves or roots. *Annals of Botany*, 87, 379-386.
- Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3954-62.
- Kumari, S., Kumar, B., Sheel, R. (2016). Bioremediation of heavy metals by serious aquatic weed, *Salvinia*. *International Journal of Current microbiology and applied sciences*, 5, 355-368.
- Leal-Alvarado, D., Espadas, F., Sáenz, L., Talavera, C. (2016). Lead accumulation reduces photosynthesis in the lead hyper-accumulator *Salvinia minima* Baker by affecting the cell membrane and inducing stomatal closure. *Aquatic Toxicology*, 171, 37-47.
- Li, N., Kang, Y., Pan, W., Zeng, L., Zhang, Q., Luo, J. (2015). Concentration and transportation of heavy metals in vegetables and risk assessment of human exposure to bioaccessible heavy metals in soil near a waste-incinerator site, South China. *Science of the Total Environment*, 15, 521-522, 144-151.
- Maine, M.A., Suñé, N.L., Lagger, S.C. (2004). Chromium bioaccumulation: comparison of the capacity of two floating aquatic macrophytes. *Waters Research* 38, 1494-1501.
- Marschner, H. (1998). Mineral nutrition of higher plants. *Academic Press*, 313-396.
- Marmioli, M., Antonioli, G., Maestri, E., Marmioli, N. (2005). Evidence of the involvement of plant ligno-cellulosic structure in the sequestration of Pb: An X-ray spectroscopy-based analysis. *Environmental Pollution*, 134, 217-227.

- Mierziak, J., Kamil K., Kulma, A. (2014). Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment. *Molecules*, 19, 16240-16265.
- Mishra, B., Sangwan, R.S., Mishra, S., Jadaun, J.S., Sabir, F., Sangwan, N.S. (2014). Effect of cadmium stress on inductive enzymatic and nonenzymatic responses of ROS and sugar metabolism in multiple shoot cultures of Ashwagandha (*Withania somnifera* Dunal). *Protoplasma*. 251, 1031-1045.
- Molinari, M., Tucac, G., Bentivegna, D. (2015). Efecto y concentración del cobre en cultivos regados con sulfato. XXII Congreso Latinoamericano de Malezas (ALAM) y I Congreso Argentino de Malezas (ASACIM).
- Nichols, P.B., Couch, J.D., Al-Hamdani, S.H. (2000). Selected physiological responses of *Salvinia minima* to different chromium concentration. *Aquatic Botany*, 68, 313-319.
- Olguín, E. J., Sánchez-Galvan, G., Pérez, T., Pérez, A. (2005). Surface adsorption intracellular accumulation and compartmentalization of Pb(II) in batch-operated lagoons with *Salvinia minima* affected by environmental conditions, EDTA and nutrients. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 32, 577-586.
- Oliveira, J.C.G., de Moraes Ferreira, R. Stapelfeldt, D.M.A. (2019). Use of *Salvinia sp* on the adsorption of hexavalent chromium. *Environmental Science and Pollution Research*. 26, 30463-30471.
- Podazza, G., Rosa, M., Gonzalez, A.J., Hilal, M., Prado, F.E. (2006). Cadmium induces changes in sucrose partitioning, invertase activities, and membrane functionality in roots of Rangpur Lime (*Citrus limonia* L. Osbeck). *Plant Biology*, 8, 706-714.
- Polec, K., Ruzik, R., Lipiec, E., Ciurzyńska, M., Gawrońska, H. (2007). Investigation of Pb (II) binding to pectin in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 22, 968-972.
- Pourrut, B., Shahid, M., Dumat, C., Winterton, P., Pinelli, E. (2011). Lead uptake, toxicity, and detoxification in plants. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 213, 113-136.
- Prado, C., Ponce, S. C., Pagano, E., Prado, F. E., Rosa, M. (2016). Differential physiological responses of two *Salvinia* species to hexavalent chromium at a glance. *Aquatic Toxicology*, 175, 213-221.
- Podazza, G., Rosa, M., Gonzalez, A.J., Hilal, M., Prado, F.E. (2006). Cadmium induces changes in sucrose partitioning, invertase activities, and membrane functionality in roots of Rangpur Lime (*Citrus limonia* L. Osbeck). *Plant Biology*, 8, 706-714.
- Rascio, N., Navari-Izzo, F., (2011). Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Science*, 180, 169-181.
- Samardakiewicz, S., y Woźny, A. (2000). The distribution of lead in duckweed (*Lemna minor* L.) root tip. *Plant and Soil*, 226, 107-111.
- Seregin, I.V., e Ivanov, V. B. (2001). Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 48, 523-544.
- Shahid, M.A., Balal, R.M., Khan, N., Zotarelli, L., Liu, G., Ghazanfar, M.U., Garcia-Sanchez, F. (2018). Ploidy level of citrus rootstocks affects the carbon and nitrogen metabolism in the leaves of Chromium-stressed Kinnow mandarin plants. *Environmental and Experimental Botany*, 149, 70-80.
- Tello Zevallos, W., Salvatierra, L.M., Loureiro, D.B., Morató, J., Pérez, L.M., (2018). Evaluation of the autochthonous free-floating macrophyte *Salvinia biloba* Raddi for use in the phytoremediation of water contaminated. *Desalination Water Treatment*, 103, 282–289.
- Wang, F., Wang, M., Liu, Z., Shi, Y., Han, T., Ye, Y., Gong, N., Sun, J., Zhu, C. (2015). Different responses of low grain -Cd-accumulating and high grain-Cd-accumulating rice cultivars to Cd stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 96, 261-269.
- Wintermans J.F., De Mots A., (1965). Spectrophotometric characteristics of chlorophyll *a* and *b* and their phaeophytins in ethanol, *Biochimica et Biophysica Acta*, 109, 448-455.
- Wolf, G.I., Pereira, G.C., Castro, E.M., Louzada, J., Coelho, F.F. (2012). The use of *Salvinia auriculata* as a bioindicator in aquatic ecosystems: biomass and structure dependent on the cadmium concentration. *Brazilian Journal of Biology*, 72, 71-77.

Estudio de la degradación de diésel comercial empleando *Pseudomonas spp.* aisladas de lodos facultativos provenientes de una planta productora de biogás

Loureiro, Dana^{1,2}, Olivera, Camila^{1,2}, Herrero, María Sol¹, Salvatierra, Lucas^{1,2}, Pérez, Leonardo^{1,2}

¹ Grupo de Bio&Tecnología de Materiales y Medio Ambiente (Bio&TecMA). Depto. de Investigación Institucional, Fac. de Química e Ingeniería del Rosario, Pontificia Universidad Católica Argentina (UCA-Rosario).

² Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), CCT-Rosario (Santa Fe), Argentina.

danaloureiro@uca.edu.ar

Resumen

La descarga de hidrocarburos (HC) al ambiente es una fuente importante de contaminación de suelos y acuíferos. Las tecnologías tradicionales comúnmente utilizadas para la remediación de HC son costosas y muchas veces no consiguen remover completamente estos contaminantes. Una alternativa efectiva y más rentable, que además tiene la ventaja de poder ser aplicada a grandes áreas, es la *biorremediación in situ* empleando microorganismos que posean la capacidad de degradar HC. En estudios previos realizados en nuestro laboratorio utilizando lodos facultativos, provistos por una empresa santafesina tratadora de residuos industriales para la producción de biogás, se determinó la capacidad de estos lodos para degradar diferentes sustratos orgánicos. Luego se realizaron ensayos de presión de selección en presencia de diésel comercial mediante los cuales se aislaron tres especies predominantes de bacterias del género *Pseudomonas* (*P. aeruginosa*, *P. stutzeri* y *P. mendocina*), potencialmente degradadoras de hidrocarburos. Por lo cual, el objetivo de este trabajo fue estudiar separadamente la eficiencia de biodegradación de los HC del diésel comercial por parte de las cepas aisladas del lodo facultativo. Asimismo, se emplearon parámetros indirectos para evaluar la capacidad de dichas cepas de producir biosurfactantes. Los resultados obtenidos mostraron que *P. aeruginosa* y *P. stutzeri* son significativamente más eficientes que *P. mendocina* en la degradación de diésel comercial. Asimismo, los resultados obtenidos para el índice de emulsificación y la hidrofobicidad superficial celular indicarían que *P. aeruginosa* y *P. stutzeri* son productoras de biosurfactantes. La biorremediación de sitios contaminados, así como también el tratamiento de efluentes con HC, requiere de microorganismos capaces de tolerar y asimilar estos compuestos. En este sentido, los resultados obtenidos indican que las cepas *P. aeruginosa* y *P. stutzeri* serían eficientes para ser aplicadas en procesos de biorremediación.

Palabras claves: biodegradación, hidrocarburos, diésel, biosurfactantes, *Pseudomonas*.

Abstract

The discharge of hydrocarbons (HC) into the environment is an important source of soil and aquifer contamination. Traditional technologies commonly used for HC remediation are expensive and often fail to completely remove these contaminants. An effective and more profitable alternative, which also has the advantage of being applied to large areas, is in situ bioremediation using microorganisms that can degrade HC. In previous studies carried out in our laboratory using facultative sludge, provided by an industrial waste treatment company, it was determined the capacity of these sludges to degrade different organic substrates. In addition, mild selection pressure experiments were performed using commercial diesel as solely carbon source to isolate potential diesel-degrading microorganisms. After the environmental pressure, three *Pseudomonas* species (*P. aeruginosa*, *P. stutzeri* and *P. mendocina*) were found to be predominant in the treated sample. The aim of this work was to study the biodegradation efficiency of commercial diesel by the *Pseudomonas* strains isolated from the facultative sludge. Likewise, indirect parameters were used to evaluate the ability of these strains to produce biosurfactants. The results showed that *P. aeruginosa* and *P. stutzeri* are significantly more efficient than *P. mendocina* in the degradation of commercial diesel. Also, the results obtained for the emulsification index and cell surface hydrophobicity would indicate that *P. aeruginosa* and *P. stutzeri* are biosurfactant producers. The bioremediation of contaminated sites, as well as hydrocarbon-rich wastewaters treatment, requires microorganisms capable of tolerating and assimilating these compounds. In this sense, the results obtained indicate that *P. aeruginosa* and *P. stutzeri* would be efficient to be applied in bioremediation processes.

Keywords: biodegradation, hydrocarbons, diesel, biosurfactants, *Pseudomonas*.

1. Introducción

Las actividades concernientes a la industria del petróleo a menudo ocasionan la liberación al medioambiente de hidrocarburos y contaminantes asociados, principalmente a causa de roturas o contingencias en los equipos de perforación, transporte y almacenamiento (bombas, válvulas, tanques, etc.), provocando infiltraciones y derrames que comprometen severamente los recursos naturales (Ekperusi & Aigbodion, 2015). Estos compuestos suelen alcanzar la capa freática afectando tanto el suelo como las corrientes de aguas subterráneas y superficiales, constituyendo un grave escenario de contaminación ambiental que puede ocasionar una disminución sustancial de la biodiversidad, afectando no sólo a las economías regionales, sino muy especialmente a la salud de la población (Adekunle y col., 2017; Logeshwaran y col., 2018; Ugochukwu y col., 2018). Por ejemplo, se ha demostrado que el diésel, un producto de la destilación fraccionada del petróleo crudo (compuesto mayoritariamente por HC de entre 10 a 22 átomos de carbono), afecta gravemente la salud debido a que muchos de sus componentes poseen propiedades carcinogénicas y mutagénicas (Hesterberg y col., 2012; D'Andrea & Reddy, 2013; Ekperusi & Aigbodion, 2015; Ramirez y col., 2017). Debido que es más pesado que la gasolina (compuesta principalmente por hidrocarburos de entre 4 a 11 átomos de carbono), la persistencia ambiental del diésel es mayor a causa de su baja tasa de evaporación.

Las tecnologías comúnmente utilizadas para la remediación de HC incluyen bioventilación, filtrado, incineración y diversos métodos de bombeo. Las mismas son costosas y muchas veces no consiguen remover completamente estos contaminantes. Una alternativa efectiva y más rentable, que posee la ventaja adicional de poder ser aplicada en grandes áreas, es la biorremediación *in situ* utilizando microorganismos capaces de degradar HC (Bento y col., 2003; Alvarez & Illman, 2006). Existen principalmente dos formas de llevar adelante una estrategia de remediación *in situ*: **bioestimulación**, en la cual los microorganismos indígenas son estimulados con el agregado de nutrientes y co-sustratos (Seklemova y col., 2001), y **bioaumentación**, consistente en la inoculación de un consorcio microbiano mixto enriquecido (Das & Chandran, 2011).

En estudios previos realizados en nuestro laboratorio utilizando lodos facultativos provistos por una empresa local dedicada al tratamiento de residuos industriales, se determinó la capacidad de estos lodos para degradar diferentes sustratos orgánicos. En vistas de estos resultados preliminares, se avanzó en el análisis de la composición de la flora microbiana de dichos lodos.

En la figura 1 se muestra la clasificación taxonómica de una muestra del lodo, realizada por secuenciación del gen ARNr 16S, para conocer los microorganismos presentes. Entre los distintos géneros encontrados en el lodo se puede observar la presencia del orden *Pseudomonadales*. El género *Pseudomonas* es ubicuo y puede ser encontrado en numerosos ambientes: aeróbicos, anaeróbicos y facultativos (Wasi y col., 2013).

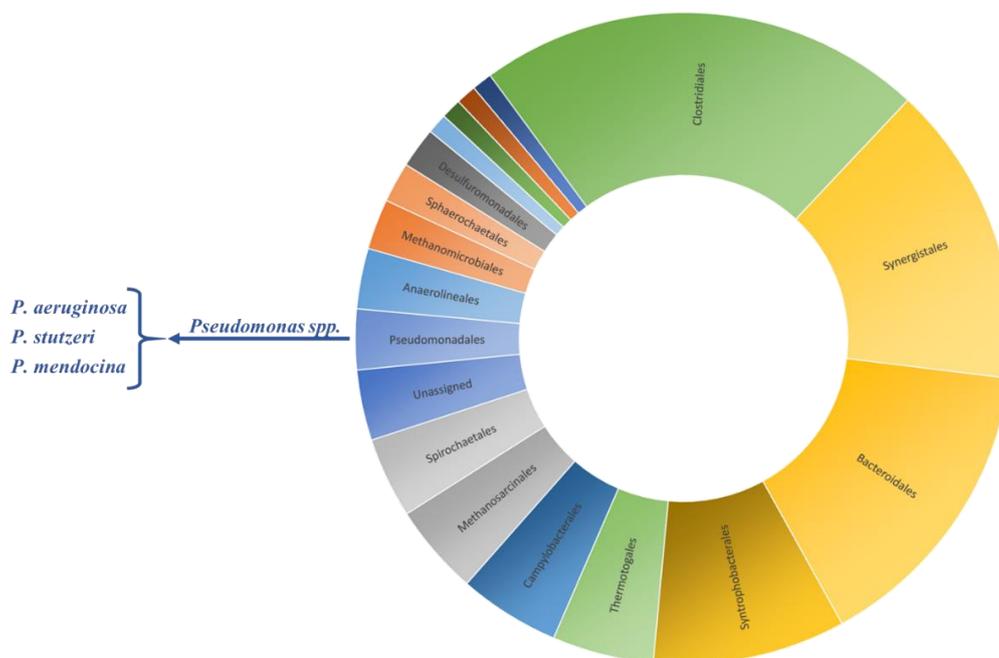


Figura 1: Composición taxonómica bacteriana de una muestra del lodo facultativo proveniente de una planta productora de biogás. La figura muestra la abundancia relativa porcentual de los órdenes bacterianos presentes en la muestra analizada.

Mediante ensayos de presión de selección con diésel comercial, se aislaron 15 bacterias del género *Pseudomonas* del lodo facultativo. Esas bacterias fueron identificadas mediante kits RapID NF Plus y por análisis de su perfil proteico con MALDI-TOF MS (del inglés *Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry*), como *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas mendocina* y *Pseudomonas stutzeri*. Diversos autores han reportado que bacterias de este género son tolerantes a los hidrocarburos y están estrechamente relacionadas a una rápida y eficiente degradación de estos compuestos, facilitando su uso en protocolos de bioaumentación tanto solas como acompañadas de otros géneros como *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Proteus*, etc (Das & Chandran, 2011; Obayori y col., 2009).

El objetivo de este trabajo fue estudiar la capacidad de las cepas del género *Pseudomonas*, aisladas del lodo facultativo, para degradar los HC del diésel comercial. Asimismo, se emplearon parámetros indirectos para evaluar la capacidad de dichas cepas de producir biosurfactantes. Estos estudios fueron realizados con el fin de indagar sobre la potencial aplicación de estas bacterias en procesos de biorremediación *in situ* por bioaumentación.

2. Materiales y Métodos

2.1. Curvas de crecimiento bacteriano

Se obtuvieron las curvas de crecimiento de las 3 bacterias del orden *Pseudomonadales* aisladas del lodo industrial. Para ello se utilizaron botellas de 125 mL como biorreactores conteniendo 50 mL de medio mínimo salino Bushnell Haas (BHB) pH 7,00 y diésel comercial 1 %v/v esterilizado con filtro de 0,2 μm como única fuente de carbono. En los sistemas correspondientes se inocularon 100 μL de una suspensión bacteriana ajustada al estándar 0,5 de la escala de Mc. Farland (aproximadamente $1,5 \times 10^8$ CFU/mL) en solución fisiológica estéril. Luego, los reactores fueron incubados en baño termostático en agitación (130 rpm) a 37 °C por 15 días. La densidad óptica fue medida periódicamente a 600 nm ($\text{OD}_{600\text{nm}}$) empleando un espectrofotómetro. Los experimentos fueron realizados por triplicado ($n=3$).

2.2. Ensayos de actividad deshidrogenasa.

Se utilizó un método colorimétrico basado en la reducción enzimática del cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC), utilizado comúnmente para indicar la respiración celular. Este indicador redox es reducido a 1,3,5-trifenilformazán (formazán), de color rojo, en presencia de microorganismos metabólicamente activos debido a la acción de las enzimas deshidrogenasas. Por lo tanto, la cantidad de formazán generado es proporcional a la biomasa bacteriana e indica que los microorganismos presentes en el medio son capaces de metabolizar la fuente de carbono suministrada. La detección de formazán se realiza espectrofotométricamente a 482 nm.

Se prepararon sistemas en lote conteniendo 50 mL de medio BHB (pH 7,00), 0,5 mg/mL de TTC, 100 μL de una suspensión de cada cepa en solución fisiológica estéril ajustada al 0,5 de la escala de Mc Farland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) y diésel comercial 1 %v/v esterilizado con filtro de 0,2 μm . Todos los sistemas fueron incubados con agitación (130 rpm) a 37 °C durante 15 días. Además, se realizó un control de sustrato conteniendo únicamente diésel al 1 %v/v. Todos los ensayos se realizaron por triplicado ($n=3$). La habilidad de los microorganismos de crecer a expensas del diésel comercial fue determinada cualitativamente mediante la observación del color rojo, tanto en la solución como en la interfase, como indicador de las bacterias viables unidas a la fase orgánica formando un *biofilm* (Brown y col., 2013). Adicionalmente, al final de la etapa de incubación, el trifenilformazán fue extraído de las células con 5 mL de acetona al 80 %. Luego de centrifugar (3000 g, 10 min) se midió la absorbancia del sobrenadante a 485 nm como describió Kumari y col. (2016).

2.3. Determinación del índice de emulsificación y de la hidrofobicidad superficial celular.

Se realizaron ensayos indirectos para evaluar la producción de biosurfactantes por parte de las tres *Pseudomonas*. Para ello, 100 μL de una suspensión bacteriana de cada cepa ajustada al estándar 0,5 de la escala de Mc. Farland (aprox. $1,5 \times 10^8$ UFC/mL) fueron inoculados en 50 mL de BHB (pH 7,00) suplementado con diésel comercial 1 %v/v como única fuente de carbono esterilizado con filtro de 0,2 μm . Los sistemas fueron incubados a 37 °C en agitación (130 rpm) por 15 días. Finalizado el período de incubación, las muestras fueron centrifugadas a 7000 g por 20 minutos para obtener un sobrenadante libre de células (SNLC). Finalmente, la capacidad de las cepas de producir biosurfactante fue evaluada mediante dos métodos indirectos: el índice de emulsificación (IE) y la hidrofobicidad superficial celular (HSC).

2.3.1. Índice de emulsificación

La obtención del índice de emulsificación se llevó a cabo mezclando SNLC y kerosene rosa en proporciones 1:1 (v/v). La mezcla fue vortereada a máxima velocidad por 3 minutos e incubada por 24 h ($\text{IE}_{24\%}$) a temperatura ambiente. Luego de la incubación el $\text{IE}_{24\%}$ fue calculado midiendo la altura de la capa emulsionada (Shahaliyan y col., 2015):

$$IE_{24}\% = 100 * \left(\frac{\text{Altura total de la capa emulsionada}}{\text{Altura total de la capa líquida}} \right)$$

Todos los experimentos fueron realizados por triplicado ($n = 3$).

2.3.2. Hidrofobicidad superficial celular

Este parámetro se utiliza para determinar el grado de adherencia de las células bacterianas a los hidrocarburos del diésel. Luego de centrifugar la muestra, el *pellet* celular fue resuspendido en 3 mL de solución fisiológica estéril y ajustado a una densidad óptica inicial de 0,5 a 600 nm (OD_{600nm}). A esta suspensión bacteriana se le agregaron 400 μ L de diésel comercial esterilizado con filtro de 0,2 μ m y luego la mezcla se vortereó a máxima velocidad por 3 minutos. Luego se dejó reposar a temperatura ambiente hasta observar la separación de fases (diésel – agua). La fase acuosa fue removida cuidadosamente y se volvió a medir OD_{600nm} . La HSC en términos de adherencia bacteriana fue calculada empleando la siguiente ecuación:

$$\text{Adherencia bacteriana (\%)} = 100 * \left(1 - \frac{OD_{600nm} \text{ de la suspensión vortereada}}{OD_{600nm} \text{ inicial de la suspensión antes de vorterear}} \right) \quad (2)$$

Valores de adherencia bacteriana superiores a 75% fueron considerados significativos para la producción de biosurfactante. Todos los experimentos fueron realizados por triplicado ($n = 3$).

2.4. Experimentos de biodegradación

Los experimentos de biodegradación fueron llevados a cabo en frascos de 125 mL conteniendo 50 mL de BHB (pH 7,00) suplementado con diésel comercial 1 %v/v como única fuente de carbono esterilizado con filtro de 0,2 μ m. Luego, los sistemas fueron inoculados separadamente con 1 mL de una suspensión bacteriana de cada cepa ajustada al estándar 0,5 de la escala de Mc. Farland (aprox. 10^8 UFC/mL) e incubados durante 15 días a 37 °C y 130 rpm.

Luego de la incubación, se adicionaron 5 mL de hexano a cada biorreactor para extraer el diésel remanente. Se agitó vigorosamente durante 1 minuto y luego se centrifugó por 10 minutos a 3500 rpm. La fase orgánica fue recolectada y filtrada con filtro de PTFE (0,45 μ m de tamaño de poro) para poder ser analizada mediante cromatografía gaseosa. Sistemas con diésel comercial estéril 1 %v/v sin inóculo bacteriano fueron utilizados como controles para evaluar cambios en la concentración de diésel producidos abióticamente. Todos los experimentos fueron realizados por triplicado ($n = 3$).

2.5. Análisis cromatográfico

Las extracciones de diésel remanente con hexano fueron analizadas en un cromatógrafo gaseoso SCION 436 GC con detector FID (del inglés *flame ionization detector*) y una columna capilar de 30 m. La temperatura del inyector y del detector se fijó en 275 °C, mientras que para la columna se empleó una rampa de temperatura iniciando en 90 °C, luego aumentando a 7 °C/min hasta 300 °C y manteniendo esa temperatura por 1 min. El volumen de muestra inyectado fue de 1 μ L y la relación de split 1:20. Como gas *carrier* se utilizó nitrógeno fluyendo a 1 mL/min.

La eficiencia de biodegradación porcentual (EB) de las fracciones petroquímicas y FAME del diésel comercial fueron calculadas mediante la expresión descripta por Michaud et al. (2004):

$$EB (\%) = 100 - \frac{A_s * 100}{A_{ca}} \quad (3)$$

donde A_s es el área total de los picos seleccionados (C_{11} - C_{22} o FAME) en cada muestra después de la incubación y A_{ca} es el área total de los picos seleccionados en el control abiótico después de la incubación.

2.6. Análisis estadístico

Todos los experimentos fueron realizados con 3 muestras independientes por sistema ($n = 3$). El análisis de la variancia (ANOVA) fue llevado a cabo utilizando el programa SigmaStat 3.5. La diferencia de promedios entre grupos fue resuelta empleando el test de Tukey con un nivel de significancia de $p < 0,05$.

3. Resultados y Discusión

3.1. Evaluación del crecimiento de las cepas *Pseudomonas* empleando diésel comercial como única fuente de carbono.

En la figura 2 se observa la cinética de crecimiento de *P. aeruginosa*, *P. mendocina* y *P. stutzeri*, en medio mínimo salino BHB suplementado con diésel comercial al 1 %v/v como única fuente de carbono y energía. La evolución de la cinética de crecimiento fue seguida midiendo la densidad óptica a 600 nm durante 15 días a 37 °C.

P. aeruginosa y *P. stutzeri* mostraron perfiles de crecimiento similares, en ninguno se observa fase de latencia y ambas alcanzan la fase estacionaria al segundo día de incubación. Esto podría deberse a una buena y rápida asimilación de los hidrocarburos del diésel por parte de ambas cepas (Mnif y col., 2015). Mientras que para *P. mendocina* se observa una fase de latencia de 4 días, a partir de donde se observa un crecimiento progresivo hasta el final del ensayo sin alcanzar la fase estacionaria. Que esta cepa no haya alcanzado la fase estacionaria, sumado al crecimiento lento respecto de las otras bacterias, podría deberse a la falta de nutrientes o a cambios en el ambiente que puedan afectar su supervivencia (aparición de metabolitos tóxicos, cambios en el pH del medio, en la tensión de oxígeno, etc.).

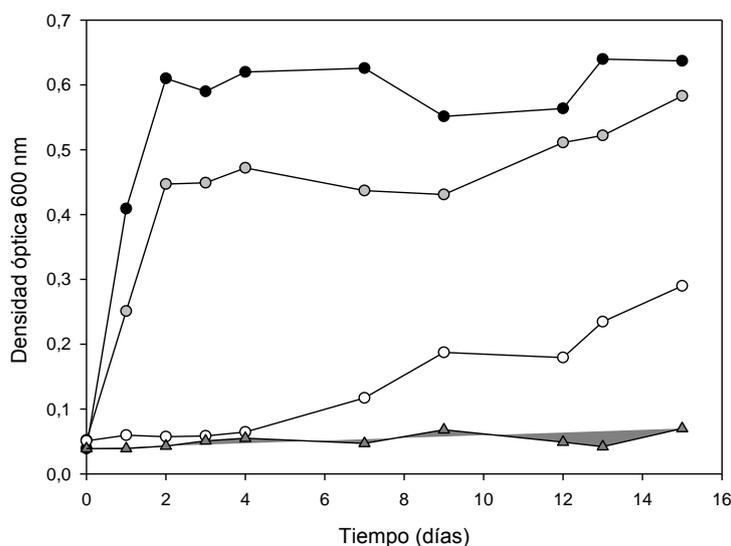


Figura 2: Curvas de crecimiento de (●) *P. aeruginosa*, (◐) *P. stutzeri*, (○) *P. mendocina*, (▲) control diésel, en medio BHB (pH 7,00) con diésel comercial 1 %v/v como única fuente de carbono durante 15 días a 37 °C y 130 rpm.

3.2. Estudio de la producción de biosurfactante y actividad deshidrogenasa.

El crecimiento de ciertos organismos a expensas de compuestos orgánicos puede ser limitado por varios factores, tales como su estructura química, su baja solubilidad, las condiciones del medio, etc. (Mnif y col., 2015). Es sabido que los hidrocarburos tienen baja solubilidad en sistemas acuosos, por lo cual para que las bacterias puedan hacer uso de ellos, deben estar biodisponibles en el medio. Algunas bacterias degradadoras de hidrocarburos son capaces de sintetizar agentes emulsificantes naturales llamados *biosurfactantes*. Estos son compuestos extracelulares con propiedades anfipáticas que favorecen la incorporación de los compuestos orgánicos por parte de las bacterias (Preethy & Das, 2010). En este sentido, el índice de emulsificación (IE₂₄%) es considerado un método confiable para ensayar la capacidad de los microorganismos de producir biosurfactantes (Mendes Lopes y col., 2014; Shahaliyan y col., 2015). En la tabla 1 puede observarse que el máximo IE₂₄% (48,8 ± 1,9) fue obtenido para *P. stutzeri* y el menor para *P. mendocina* (15,0 ± 3,5).

Otro factor importante es la Hidrofobicidad Superficial Celular (HSC) que indica la capacidad de las bacterias gramnegativas de modificar la estructura de su pared celular aumentando su hidrofobicidad en presencia de sustratos orgánicos (Ali Khan y col., 2017). En este sentido, *P. aeruginosa* y *P. stutzeri* mostraron valores significativos de HSC (> 80%) en las condiciones ensayadas.

TABLA 1: Producción de biosurfactante luego de 15 días de incubación (37 °C, 130 rpm) en medio BHB con diésel comercial 1 %v/v como única fuente de carbono.

	IE ₂₄ (%)	HSC (%)
<i>P. aeruginosa</i>	39.5 ± 2.5 ^b	81.3 ± 2.6 ^b
<i>P. mendocina</i>	15.0 ± 3.5 ^a	33.8 ± 1.2 ^a
<i>P. stutzeri</i>	48.8 ± 1.9 ^c	82.9 ± 0.7 ^b

Los datos corresponden a los valores promedio \pm la desviación estándar de 3 réplicas independientes ($n=3$).

Los valores con letras diferentes en cada columna muestran indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Estos resultados también pueden explicar la adherencia de las células metabólicamente activas de *P. aeruginosa* y *P. stutzeri* (de color rojo debido al formazán intracelular) a la fase orgánica del diésel (Figura 3).

Por otra parte, *P. mendocina* mostró una menor capacidad para producir biosurfactante y esto se correlaciona con el bajo valor de HSC obtenido (Tabla 1). Esto también podría explicar la fase estacionaria de 4 días observada en la curva de crecimiento de la Figura 2, así como también la falta de desarrollo de formazán en el experimento de actividad deshidrogenasa (Figura 3).

Varios autores han reportado la producción de biosurfactantes por parte de bacterias del género *Pseudomonas*, llamados ramnolípidos (Mnif y col., 2015). Estos tienen ventajas sobre los surfactantes sintéticos, tales como baja toxicidad, alta biodegradabilidad, selectividad y actividad específica a temperaturas, pHs y salinidad extremos (Preethy & Das, 2010). Por este motivo, entender cuáles son los procesos microbianos involucrados en la incorporación y la metabolización de los compuestos orgánicos resulta fundamental para desarrollar estrategias de biorremediación de sitios/efluentes contaminados con hidrocarburos.

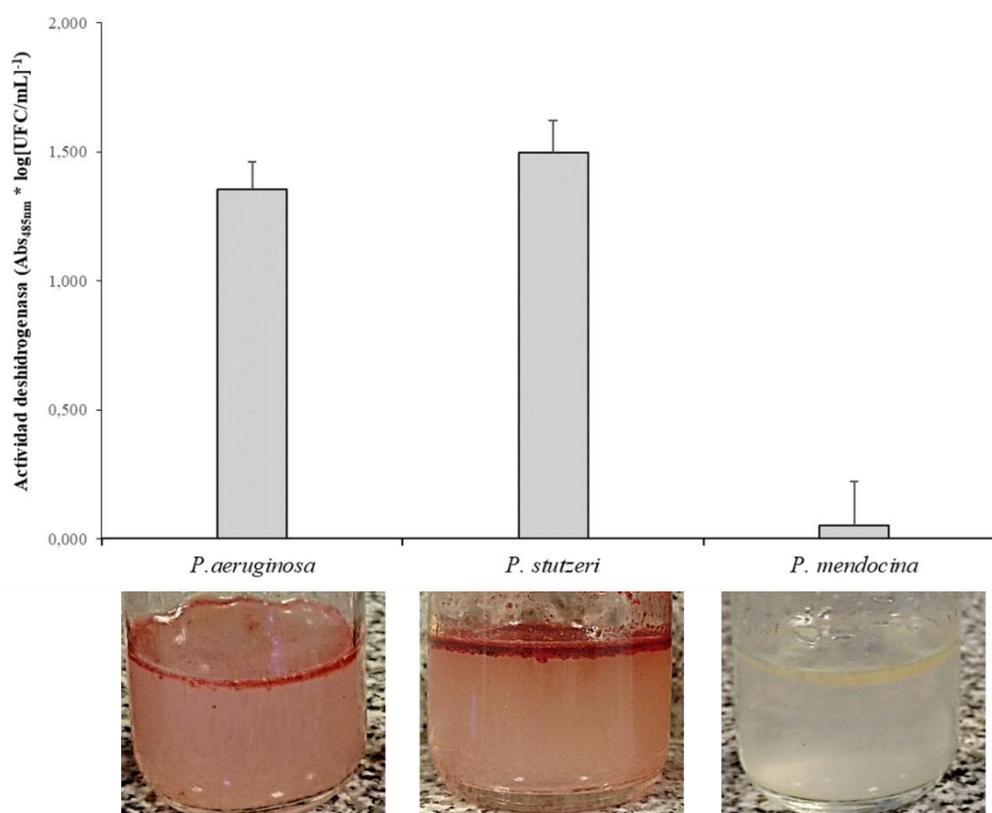


Figura 3: Actividad deshidrogenasa de las cepas *Pseudomonas* luego de 15 días de incubación (37 °C, 130 rpm) en BHB suplementado con diésel comercial 1 % v/v como única fuente de carbono. El color rojo en los sistemas con las bacterias *P. aeruginosa* y *P. stutzeri* muestra la producción de formazán, indicando su capacidad para metabolizar el diésel comercial.

3.3. Experimentos de biodegradación

El diésel comercial utilizado en este trabajo contiene 10 % de biodiésel (B10). El biodiésel es una mezcla de ácidos de ésteres metílicos (del inglés FAME) que resultan más fácilmente degradables por microorganismos que la fracción petroquímica (alcanos C₁₁-C₂₂). Por este motivo, en la figura 4 se muestra separadamente la eficiencia de biodegradación (EB) de ambas fracciones del diésel comercial por parte de las tres *Pseudomonas*. Puede observarse que las cepas más eficientes fueron *P. stutzeri* y *P. aeruginosa* alcanzando EB de $53 \pm 2\%$ y $42 \pm 5\%$ para la fracción petroquímica respectivamente y más del 75 % para la fracción FAME. Las EB alcanzadas por ambas cepas para la fracción petroquímica podría relacionarse con su capacidad de producir biosurfactantes bajo las condiciones ensayadas (Tabla 1). Mientras que *P. mendocina* mostró una EB menor al 10 % para ambas fracciones. Dado que la biodegradación de los compuestos orgánicos está estrechamente relacionada con su biodisponibilidad, estos resultados

concuerdan con los resultados de IE₂₄% y de HSC alcanzados por esta cepa.

Esto indicaría que *P. mendocina* sería menos eficiente que *P. aeruginosa* y *P. stutzeri* para la degradación del diésel comercial bajo las condiciones ensayadas.

Varios autores sugieren que la presencia de biodiésel podría favorecer la biodegradación de los hidrocarburos (Derrossi Meyer y col., 2014; Soares Junio y col., 2009). De hecho, los compuestos FAME constituyen un sustrato fácilmente asimilable que estimularía la biomasa bacteriana e incrementaría la biodegradación de los n-alcanos vía co-metabolismo (Brücker y col., 2011). Además, los compuestos FAME actuarían como surfactantes no iónicos, favoreciendo la biodisponibilidad de los hidrocarburos y aumentando, en consecuencia, su potencial biodegradación (Obbard y col., 2004; Yassine y col., 2013). Este comportamiento se observó para *P. aeruginosa* y *P. stutzeri* que mostraron altas EB de la fracción FAME acompañadas de EB significativas de la fracción de hidrocarburos C₁₁-C₂₂.

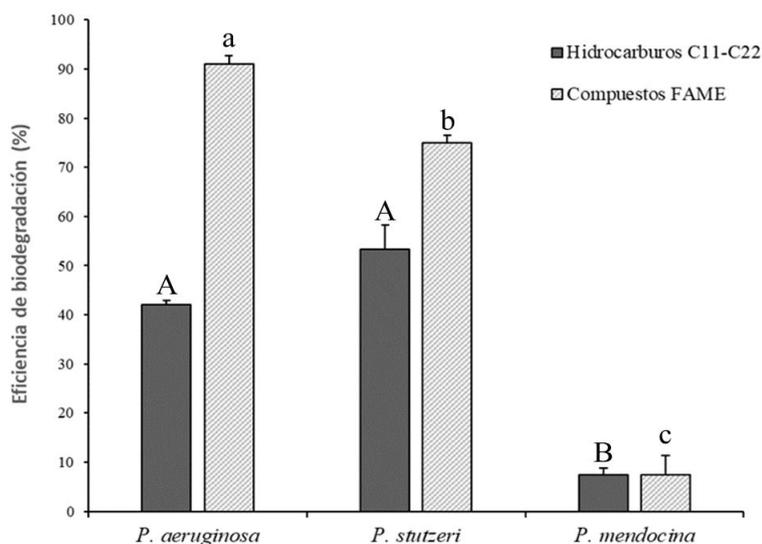


Figura 4: Eficiencia de biodegradación (%) de compuestos petroquímicos (C₁₁-C₂₂) y de la fracción FAME del diésel comercial (1 %v/v) por parte de las *Pseudomonas* incubadas en BHB durante 15 días (37 °C, 130 rpm). Letras minúsculas diferentes muestran diferencias significativas en la degradación de la fracción FAME y letras mayúsculas diferentes muestran diferencias significativas en la degradación de los n-alcanos de cadena media ($p < 0.05$).

4. Conclusiones

En este trabajo se estudiaron algunos mecanismos indirectos que podrían estar involucrados en la degradación del diésel comercial por parte de tres cepas del género *Pseudomonas*.

Los resultados obtenidos de IE₂₄% e HSC para *P. stutzeri* y *P. aeruginosa* indicarían que estas cepas serían productoras de biosurfactantes. Mientras que los valores de estos parámetros obtenidos para *P. mendocina* indicarían que esta cepa no es capaz de producir biosurfactantes bajo las condiciones ensayadas. Estos resultados están en concordancia con las eficiencias de biodegradación obtenidas para la fracción petroquímica del diésel comercial por parte de las tres cepas: 53 ± 2%, 42 ± 5% y 7,5 ± 2%, respectivamente. A su vez las cepas *P. aeruginosa* y *P. stutzeri* mostraron actividad deshidrogenasa mediante el método colorimétrico empleado, mientras que para *P. mendocina* no se obtuvieron resultados positivos.

La biorremediación de sitios contaminados, así como también el tratamiento de efluentes con hidrocarburos, requiere de microorganismos capaces de tolerar y asimilar estos compuestos. En este sentido, los resultados obtenidos indican que las cepas *P. aeruginosa* y *P. stutzeri* serían eficientes para ser aplicadas en procesos de biorremediación.

Agradecimientos

Los autores agradecen muy especialmente a la empresa SOLAMB S.R.L. por la provisión de muestras de lodos microbiológicos. También a las Dras. Cecilia Casabonne y Virginia Aquili de la cátedra de Bacteriología Clínica (FCByF - UNR) por su colaboración con la identificación de las cepas bacterianas. Este proyecto es financiado con el soporte de la Pontificia Universidad Católica Argentina, el CONICET, la ANPCyT y el MinCTIP de la Provincia de Santa Fe.

Referencias bibliográficas

- Adekunle AS, Oyekunle J, Adekunle O, Ojo OS, Maxakato NW, Olutona GO, Obisesan OR. (2017). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbon levels of groundwater in Ife north local government area of Osun state, Nigeria. *Toxicology Reports*, 4: 39-48.
- Ali Khan, A.H., Tanveer, S., Alia, S., Anees, M., Sultan, A., Iqbal, M., Yousaf, S. (2017). Role of nutrients in bacterial biosurfactant production and effect of biosurfactant production on petroleum hydrocarbon biodegradation. *Ecological Engineering*, 104, Part A, 158-164.
- Alvarez PJJ & Illman WA. (2006). Bioremediation and natural attenuation - Process fundamentals and mathematical models. Hoboken, NJ, USA. ISBN 978-0-471-65043-0.
- Bento FM, Oliveira Camargo FA, Okeke B, Frankenberger-Júnior WT. (2003). Bioremediation of soil contaminated by diesel oil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 34(Suppl.1): 65-68.
- Brown, H.L., van Vliet, A.H., Betts, R.P., Reuter, M. (2013). Tetrazolium reduction allows assessment of biofilm formation by *Campylobacter jejuni* in a food matrix model. *Journal of Applied Microbiology*, 115(5), 1212-1221.
- Bücker, F., Santestevan, N.A., Roesch, L.F., Jacques, R.J.S., Peralba, M. do C.R., Camargo, F.A. de O., Bento, F.M. (2011). Impact of biodiesel on biodeterioration of stored Brazilian diesel oil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 65(1), 172-178.
- D'Andrea MA & Reddy GK. (2013). Health consequences among subjects involved in gulf oil spill clean-up activities. *The American Journal of medicine*, 126(11): 966-974.
- Das, Nilanjana & Chandran, Preethy (2011). Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbon Contaminants: An Overview. *Biotechnology Research International*.
- Derrossi Meyer, D., Beker, S., Bücker, F., Peralba, M.d.C., Frazzon, A., Flávio Osti, J., Andreazza, R., Camargo, F., Bento, F. (2014). Bioremediation strategies for diesel and biodiesel in oxisol from southern Brazil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 95, 1-8.
- Ekperusi O.A. & Aigbodion I.F. (2015). Bioremediation of heavy metals and petroleum hydrocarbons in diesel contaminated soil with the earthworm. *Eudrilus eugeniae. SpringerPlus*, 4: 540.
- Hesterberg TW, Long CM, Bunn WB, Lapin CA, McClellan RO, Valberg PA. (2012). Health effects research and regulation of diesel exhaust: an historical overview focused on lung cancer risk. *Inhalation Toxicology*, 24(1): 1-45.
- Kumari, B., Singh, S.N., Singh, D.P. (2016). Induced degradation of crude oil mediated by microbial augmentation and bulking agents. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 13: 1029-1042.
- Logeshwaran P, Megharaj M, Chadalavada S, Bowman M, Naidu R. (2018) Petroleum hydrocarbons (PH) in groundwater aquifers: An overview of environmental fate, toxicity, microbial degradation and risk-based remediation approaches. *Environmental Technology & Innovation*, 10: 175-193.
- Mendes Lopes, É., Castellane, T.C., Moretto, C., Lemos, E., De Souza, J.A. (2014). Emulsification properties of bioemulsifiers produced by wild-type and mutant *Bradyrhizobium elkanii* strains. *Journal of Bioremediation & Biodegradation*, 5(6), 245.
- Michaud, L., Lo Giudice, A., Saitta, M., De Domenico, M., Bruni, V., 2004. The biodegradation efficiency on diesel oil by two psychrotrophic Antarctic marine bacteria during a two-month-long experiment. *Marine Pollution Bulletin*, 49(5-6), 405-409.
- Mnif, I., Mnif, S., Sahnoun, R., Maktouf, S., Ayedi, Y., Ellouze-Chaabouni, S., Ghribi, D. (2015). Biodegradation of diesel oil by a novel microbial consortium: comparison between co-inoculation with biosurfactant-producing strain and exogenously added biosurfactants. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(19), 14852-14861.
- Obayori, O.S., Adebuseye, S.A., Adewale, A.O., Oyetibo, G.O., Oluyemi, O.O., Amokun, R.A., Ilori, M.O. (2009). Differential degradation of crude oil (Bonny Light) by four *Pseudomonas* strains. *J Environ Sci (China)*, 21(2): 243-8.
- Obbard, J.P., Ng, K.L., XU, R. (2004). Bioremediation of petroleum contaminated beach sediments: use of crude palm oil and fatty acids to enhance indigenous biodegradation. *Water, Air, and Soil Pollution*, 157(1-4), 149-161.
- Preethy, C., Das, N. (2010). Biosurfactant production and diesel oil degradation by yeast species *Trichosporon asahii* isolated from petroleum hydrocarbon contaminated soil. *International Journal of Engineering Science and Technology* 2(12), 6942-6953.
- Ramirez MI, Arevalo AP, Sotomayor S, Bailon-Moscoso N. (2017). Contamination by oil crude extraction – Refinement and their effects on human health. *Environmental Pollution*, 231: 415-425.

- Seklemova, E., A. Pavlova, y K. Kovacheva (2001). Biostimulation-based bioremediation of diesel fuel: field demonstration. *Biodegradation*, 12(5): 311-6.
- Shahaliyan, F., Safahieh, A., Abyar, H. (2015). Evaluation of Emulsification Index in Marine Bacteria *Pseudomonas sp.* and *Bacillus sp.* *Arabian Journal for Science and Engineering*, 40(7): 1849-1854.
- Soares Junior, J., Mariano, A., De, D., De Angelis, F., 2009. Biodegradation of biodiesel/diesel blends by *Candida viswanathii*. *African Journal of Biotechnology*, 8(12), 2774-2778.
- Ugochukwu UC, Ochonogor A, Jidere CM, Agu C, Nkoloagu F, Ewoh J, Okwu-Delunzu VU. (2018). Exposure risks to polycyclic aromatic hydrocarbons by humans and livestock (cattle) due to hydrocarbon spill from petroleum products in Niger-delta wetland. *Environment International*, 115: 38.
- Wasi, S., Tabrez, S., Ahmad, M. (2013). Use of *Pseudomonas spp.* for the bioremediation of environmental pollutants: a review. *Environ Monit Assess*, 185(10): 8147-55.
- Yassine, M.H., Wu, S., Suidan, M.T., Venosa, A.D. (2013). Aerobic biodegradation kinetics and mineralization of six petrodiesel/soybean-biodiesel blends. *Environmental Science & Technology*, 47(9), 4619-4627.

Diseño y modelización de equipo para el estudio del secado convectivo de granos de origen agrícola II

Casiello, Francisco; Galaretto, Oscar; Farías, Ana María; Herrera, Luis Alberto; Hollmann, Diego; Castagnani, German.

Departamento de Investigación Institucional – Facultad de Química e Ingeniería del Rosario

Pontificia Universidad Católica Argentina – Campus Rosario

Resumen:

En el presente trabajo se avanzará con la evaluación teórica, diseño, modelización de control y construcción de una secadora de granos piloto con el fin de realización de estudios y ensayos para identificar posibles ahorros de energía durante el proceso en las diferentes condiciones ideales a los efectos de tener un valor de referencia al momento de la operación. Este proyecto forma parte de un proyecto de investigación institucional más amplio, denominado “Optimización de energía en procesos de post cosecha de granos de origen agrícola”, dirigido a desarrollar temas vinculados a la actividad industrial en la zona núcleo agropecuaria, donde se encuentra ubicada la Facultad. Estos valores, basados en una comprensión más profunda de los fenómenos de transferencia involucrados deben ayudar a lograr diseños y procesos que tengan el ahorro de energía que, como se sabe, es muy importante en esta etapa de la industrialización de granos.

Palabras clave: Secadoras industriales, optimización energética, granos de origen agrícola, modelización de variables de control.

Abstract:

In this paper, the theoretical evaluation, design, control modeling and construction of a pilot grain dryer will be advanced in order to carry out studies and tests to identify possible energy savings during the process in the different conditions ideal for this purpose. of having a reference value at the time of the operation. This project is part of a broader institutional research project, called “Optimization of energy in post-harvest processes of grains of agricultural origin”, aimed at developing issues related to industrial activity in the agricultural core area, where the Faculty. These values, based on a deeper understanding of the transfer phenomena involved, should help achieve designs and processes that have the energy savings that, as is known, is very important in this stage of grain industrialization.

Keywords: Industrial dryers, energy optimization, grains of agricultural origin, modeling of control variables.

1. Introducción

El secado artificial produce la principal transformación del grano en lo que llamamos la post- cosecha y a su vez es el procedimiento que más atención requiere para no afectar la calidad del mismo. Su objetivo fundamental es lograr que, durante el almacenamiento, el grano conserve sus características por el mayor tiempo posible. Para ello, el proceso de secado de granos debe dar respuesta a cuatro requerimientos:

- 1) Disminuir el contenido de agua en los granos
- 2) Evitar la germinación de las semillas
- 3) Conservar la máxima calidad del grano
- 4) Alcanzar un grado de humedad que no permita el crecimiento de bacterias y hongos, y, que retarde considerablemente el desarrollo de ácaros e insectos

El mismo puede realizarse con aire natural o con aire caliente, sin embargo la temperatura que el grano adquiere durante el proceso de secado es fundamental para determinar si el mismo mantiene su calidad inicial. Todos los métodos utilizados para secar granos emplean la propiedad del aire de absorber humedad, contenido de humedad del producto y la humedad relativa del aire. La humedad del aire debe ser menor a la humedad final requerida. Otra condición importante es la temperatura del aire ya que como sabemos el aire caliente seca con más rapidez el grano que el aire frío.

Es casi imposible secar el grano por completo, debido a que la semilla retiene, en promedio, el 10% de la humedad. El grano puede almacenarse a salvo con esta cantidad de agua. En muchos casos, eliminar esta última cantidad de agua puede dañar el grano. Las secadoras de flujo continuo son las comercialmente más empleados en la actualidad. En ellas el grano se introduce y descarga en forma continua o intermitente, permaneciendo constantemente llenas las secciones

de secado y enfriamiento. Las operaciones de secado y enfriamiento se efectúan en forma simultánea e ininterrumpida. El grano recorre las mismas desde arriba hacia abajo y pueden ser clasificadas de acuerdo al tipo de flujo en:

- a) Las secadoras de flujo mixto, también llamadas de "caballetes", tienen como elemento principal, en las zonas de secado y enfriamiento, un conjunto de conductos en forma de V invertida, por donde circula el aire caliente o frío.
- b) Las de flujo cruzado, también llamadas "de columnas" poseen columnas o venas rectas por donde circula por gravedad el grano; las columnas están formadas por paredes de chapas perforadas, las que atraviesa el aire caliente (o frío) en forma cruzada o perpendicular al espesor de la columna.

Generalmente el secado del grano suele convertirse en un cuello de botella para la industria ya que además de ser costoso, es por lo dicho anteriormente, potencialmente peligroso para la calidad del grano. Es por ello que las instalaciones de secado representan inversiones importantes medidas en tonelada de grano procesado.

No debemos perder de vista que del total de la energía utilizada en el proceso de producción de granos, el secado insume alrededor del 50%. Por lo que tomando en cuenta estos dos factores, calidad y consumo de energía, se puede apreciar claramente la importancia que adquiere este proceso. Debemos tener en cuenta que el precio de la secadora representa alrededor del 45% del costo total de una instalación de secado, ya que además debemos pensar en la noria elevadora, en el silo de grano húmedo, en la provisión de combustible, en los ciclones o elementos filtrantes para polvo (cada vez más importantes en términos del cuidado del medioambiente), plataformas de descarga, balanza, etc.

El interés de este proyecto, sin embargo, se centra en la determinación del consumo energético durante el proceso de pos-cosecha y el diseño de acciones tendientes a la minimización de este consumo. A pesar de que el secado es uno de los procesos más empleados a nivel industrial, todavía se desconocen muchos aspectos relacionados con las etapas y mecanismos aplicados en el mismo. Esto se debe en general a la complejidad de las estructuras de los materiales a secar.

2. Construcción del Equipo

El equipo que construimos es una secadora vertical de flujo mixto, también llamada de caballetes, que tiene como elemento principal, en las zonas de secado y enfriamiento, un conjunto de conductos en forma de V invertida, por donde circula el aire caliente o frío.

2.1. Detalles de la construcción

Para esta etapa de investigación nos enfocaremos en la construcción del equipo reutilizando partes donadas a la Facultad por empresas de la zona. Estas serán adaptadas a las necesidades específicas del diseño adicionando otras partes específicas según los cálculos realizados por alumnos de 5to año Ingeniería Industrial que participan del proyecto.

Partes componentes básicas

- ✓ Calentador eléctrico
- ✓ Lecho prismático
- ✓ Tolva de carga
- ✓ Boquilla de salida
- ✓ Ventilador para movimiento flujo de aire caliente
- ✓ Filtro ciclónico de partículas sólidas.
- ✓ Estructura/cuerpo soporte de secado.

La descarga de granos será facilitada por un mecanismo de sin fin accionado por un motoreductor eléctrico cuyo control de velocidad será fundamental para determinar el tiempo de permanencia de la carga dentro del equipo. Por su parte, el aire húmedo en la salida del equipo se hace pasar por un filtro ciclónico a los efectos de suprimir el polvillo en suspensión que pudiera arrastrarse luego de su intercambio de calor con el grano y desprendimiento de cascarilla ubicada sobre la superficie de estos. En etapas posteriores a este trabajo se avanzará con el desarrollo de un sistema de automatización de la operación del equipo. Durante esta etapa de diseño y construcción en particular ciertas partes del equipo, se tendrán en cuenta factores importantes que hacen a la preservación de la calidad del grano que se introduce en el proceso, como ser fisuras y roturas producidas por cambios bruscos de temperatura y daño mecánico, pérdida del poder germinativo, aumento del nivel de impurezas, etc.

3. Obtención de ecuaciones para determinar la velocidad límite de la partícula de finos en suspensión dentro del lecho de granos.

En una secadora por gravedad los gases de secado circulan a través de un lecho móvil formado por partículas sólidas, las cuales son introducidas por la parte superior y removidas por la parte inferior de la secadora. Las dos fases, la sólida y la gaseosa, fluyen. El sólido está sumergido y rodeado por el fluido y existe una velocidad relativa entre las dos fases. Para que una partícula se mueva a través de un fluido, se requiere la existencia de una diferencia de densidad entre la partícula y el fluido y una fuerza externa que comunique a la partícula un movimiento relativo respecto del fluido, que, en este caso, es la gravedad.

Sobre una partícula que se mueve a través de un fluido actúan tres fuerzas: una fuerza externa, de gravedad o centrífuga; la fuerza de flotación, que actúa paralela a la fuerza externa pero en dirección opuesta; y la fuerza de frotamiento, que aparece siempre que existe movimiento relativo entre la partícula y el fluido. Cuando la dirección del movimiento de la partícula respecto del fluido no es paralela a la dirección de las fuerzas externas y de flotación, la fuerza de frotamiento forma un ángulo con las otras dos. En este caso, que recibe el nombre de movimiento bidimensional, y el frotamiento hay que expresarlo en función de sus componentes. Durante el año 2017 se realizó búsqueda bibliográfica y traducción de artículos y capítulos de libros, que permitan la revisión de las ecuaciones básicas del flujo de fluidos y de las leyes elementales de la física y de la química aplicables al flujo de un fluido a través de un lecho sólido móvil, con movimiento bidimensional.

En el transcurso del año 2018 se profundizó sobre lo visto el año anterior, con el objetivo de obtener ecuaciones que permitan determinar la velocidad límite de la partícula en sedimentación libre y en sedimentación impedita; la velocidad del fluido, la caída de presión y el rozamiento sobre las partículas en movimiento, completamente suspendidas, es decir, cuando la suspensión se comporta como un lecho fluidizado. En esta año 2019 se avanzó con la construcción de la carpintería metálica hasta dejar armado el cuerpo, pre-tolva de ingreso de granos, haz convectivo y plataformas de acceso. El diseño, la ingeniería de detalle y la construcción de la máquina fue llevada a cabo el grupo de alumnos del último año de la carrera Ingeniería Industrial como consigna del proyecto final, con el apoyo de la cátedra de las asignaturas Proyecto de Planta y Trabajo Final. En cuanto al equipo, estamos hablando de un diseño de secadora vertical de flujo mixto, también llamada de caballetes, que tiene como elemento principal, en las zonas de secado y enfriamiento, un conjunto de conductos en forma de V invertida, por donde circula el aire caliente o frío.

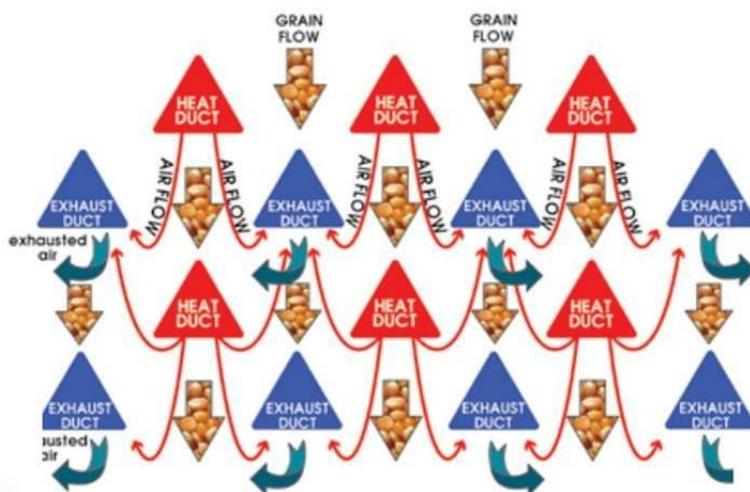


Figura 1: Detalle de flujo de granos e intercambio de aire caliente

La difusión de este tipo de secadoras se ha originado por la mejor uniformidad de secado que manifiestan en comparación con otros tipos de máquinas. Esta superioridad se explica porque estas secadoras aplican el flujo cruzado y también los principios de flujo concurrente y contracorriente.

El grano se introduce por la parte superior y se descarga en forma continua o intermitente por la parte inferior, permaneciendo constantemente llenas todas las secciones del equipo. Las operaciones de secado y enfriamiento se efectúan en forma simultánea e ininterrumpida durante el tiempo de residencia de la carga. El calor necesario para evaporar el agua contenida en el cereal es suministrado por un banco de resistencias eléctricas que se ocupa de calentar el flujo de aire que un forzador toma del ambiente e introduce en la cámara de entrada del equipo, de manera mucho

más limpia y segura que si se hiciera mediante la quema de un combustible líquido o gaseoso.

Una secadora convencional de este tipo, correctamente construida, utilizada y mantenida tiene un consumo energético de poco más de 1000 kcal/kg de agua evaporada. Esta cantidad se compone aproximadamente de la siguiente manera:

La descarga de granos será facilitada por un mecanismo de sin fin accionado por un motorreductor eléctrico cuyo control de velocidad será fundamental para determinar el tiempo de permanencia de la carga dentro del equipo.

Por su parte, el aire húmedo en la salida del equipo se hace pasar por un filtro ciclónico a los efectos de suprimir el polvillo en suspensión que pudiera arrastrarse luego de su intercambio de calor con el grano.

Etapas posteriores de este trabajo tendrán por objeto el desarrollo de algún sistema que permita automatizar la operación del equipo. Teniendo en mente este propósito se dispondrán diferentes instrumentos que permitan medir de manera continua una serie de parámetros del proceso, como ser humedad y temperatura de entrada y salida del aire, la velocidad de descarga del grano, etc.

De mismo modo, al momento del diseño de ciertas partes del equipo, se tendrán en cuenta factores importantes que hacen a la preservación de la calidad del grano que se introduce en el proceso, como ser fisuras y roturas producidas por cambios bruscos de temperatura y daño mecánico, pérdida del poder germinativo, aumento del nivel de impurezas, etc.

4. Balance de materia y energía

En la figura siguiente se puede observar un diagrama de flujo de las corrientes de entrada y salida en la secadora:

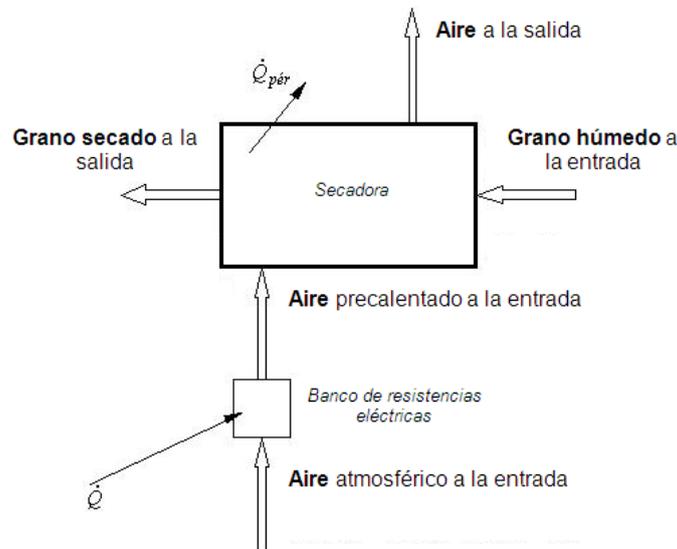


Figura 2: Detalle del balance de materia y energía

Cálculo de la cantidad de agua a evaporar en el proceso

La cantidad de grano húmedo a procesar es:

$$\dot{G}_e = 200,0 \text{ kg/h (CAPACIDAD ADOPTADA PARA EL DISEÑO)}$$

El contenido de humedad para los granos a la entrada es:

$$X_e = 0,170 \text{ kg agua/kg sólido húmedo}$$

Considerando el flujo total y el contenido de humedad indicado se puede calcular el flujo de sólido seco que atraviesa el equipo:

$$\dot{G}_{se} = 200,0 \text{ kg/h} \times (1 - 0,17) = 166,0 \text{ kg/h}$$

Realizando un balance de masa total (Treybal, 1980), se puede calcular la cantidad de agua que ingresa con los granos húmedos:

$$\dot{W}_{ge} = 200,0 \text{ kg/h} - 166,0 \text{ kg/h} = 34,0 \text{ kg/h}$$

Por otra parte, a la salida del equipo tendremos granos secados con un remanente de humedad de:

$$X_s = 0,135 \text{ kg agua/kg sólido húmedo}$$

Debe tenerse presente que cuando se seca un grano sólo se pierde agua, no se pierde materia seca, excepto el caso que en la secadora se rompa mucho grano y que parte de él sea eliminado por el aire usado en forma de polvo o granza, pero normalmente, ésta no es una circunstancia muy común ni alcanza valores representativos.

Asumiendo que la merma en la cantidad de sólidos secos es despreciable, calculamos la cantidad de granos secados que salen del equipo:

$$\dot{G}_{ss} = \dot{G}_{se} = 166,0 \text{ kg/h}$$

$$\dot{G}_s = 166,0 \text{ kg/h} / (1 - 0,135) = 191,9 \text{ kg/h}$$

Y finalmente obtenemos la cantidad de agua que se evapora en el proceso:

$$\dot{W}_{gs} = 191,9 \text{ kg/h} - 166,0 \text{ kg/h} = 25,9 \text{ kg/h}$$

$$\dot{W}_{evap} = \dot{W}_{ge} - \dot{W}_{gs} = 34,0 \text{ kg/h} - 25,9 \text{ kg/h} = 8,1 \text{ kg/h}$$

Cálculo del consumo energético requerido por el proceso

Una secadora convencional de este tipo, correctamente construida, utilizada y mantenida tiene un consumo energético de poco más de 1000 kcal/kg de agua evaporada. Esta cantidad se compone aproximadamente de la siguiente manera:

Calor necesario para la evaporación de 1 kg de agua	600 kcal
Pérdida por el calor sensible que se va en el aire usado	320 kcal
Pérdidas de calor por conducción, radiación y convección hacia el exterior	30 kcal
Pérdida por el calor transportado por el grano	80 kcal
Total	1.030 kcal/kg

De este modo podemos calcular el consumo energético asociado a la evaporación de la cantidad de agua determinada anteriormente y tener una buena aproximación de la cuantía de la energía que se pierde en el proceso:

$$\dot{Q} = 8,1 \text{ kg agua/h} \times 1.030 \text{ kcal/kg agua} = 8335,3 \text{ kcal/h}$$

$$\dot{Q}_{per} = 8,1 \text{ kg agua/h} \times 430 \text{ kcal/kg agua} = 3479,8 \text{ kcal/h}$$

Cálculo del caudal de aire de la secadora

Conocida la cantidad de agua a evaporar y calculado el consumo energético, es útil determinar la cantidad de aire necesario para transportar la cantidad de calor ya establecida sin superar una **temperatura** de trabajo prefijada.

El cálculo, en m^3/min , se puede hacer con la siguiente fórmula:

$$\text{caudal } [\text{m}^3/\text{min}] = \frac{\text{consumo energético } [\text{kcal/h}]}{\Delta t \times 17}$$

dónde:

Δt : diferencia entre la temperatura del aire de secado y la temperatura ambiente

17: constante de Foster

Suponiendo que la temperatura de aire de secado es de 100°C y la del ambiente de 20°C resulta:

$$\text{caudal de aire} = \dot{A}_e = \frac{8335,3 \text{ kcal/h}}{80 \times 17} = 6,13 \text{ m}^3/\text{min}$$

Cálculo de las características del aire usado a la salida del equipo

La humedad relativa del aire es el porcentaje de humedad que posee en ese momento, en relación con el máximo contenido de humedad que podría tener en esas condiciones. Cuando se dice que el aire tiene 75% de HR, quiere decir que le faltan 25% para llegar al máximo de humedad. Pero la humedad que puede contener como máximo un aire depende de la temperatura a que se encuentre. Cuanto más caliente se encuentre el aire, mayor es la cantidad de humedad que puede recibir.

Por este motivo, la humedad relativa del aire ambiente no es muy importante en el secado con aire caliente, pero sí lo es en el secado con aire natural o a baja temperatura. En el secado con aire caliente, la HR que tiene importancia es la del aire de secado.

El aire caliente comúnmente utilizado en el secado de granos (entre 90 y 140°C) tiene una HR muy débil (entre 0,5 y 2%) y es entonces, muy ávido de humedad. Hasta saturarse totalmente, es decir, para llegar al 100% de HR, puede acumular una gran cantidad de humedad, que la va a quitar al grano en poco tiempo. Por lo expresado y a los efectos de nuestro proyecto, adoptamos una masa de aire precalentado a la entrada del secador, con las siguientes características:

$$T_e = 100^\circ\text{C} \quad H_{Re} = 2\%$$

Mediante el uso de la carta psicrométrica para altas temperaturas (figura 1) obtenemos el contenido de humedad y el volumen específico del aire en esas condiciones:

$$Y_e = 0,012 \text{ kg agua/kg aire seco}$$

$$V_e = 1,075 \text{ m}^3/\text{kg aire seco}$$

Luego, en función del caudal de aire necesario en la secadora, tenemos a la entrada los siguientes caudales de aire seco y vapor de agua:

$$\begin{aligned} \dot{A}_{se} &= \frac{\dot{A}_e}{V_e} = \frac{6,14 \text{ m}^3/\text{min}}{1,075 \text{ m}^3/\text{kg}} = 5,72 \text{ kg aire seco}/\text{min} \\ &= 342,1 \text{ kg aire seco}/\text{h} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \dot{W}_{ae} &= 342,2 \text{ kg aire seco}/\text{h} \cdot 0,012 \text{ kg agua}/\text{kg aire seco} \\ &= 4,1 \text{ kg agua}/\text{h} \end{aligned}$$

La interacción entre el aire precalentado y los granos húmedos que acontece en el interior de la secadora provoca la transferencia de la humedad retenida en el cereal hacia el aire que atraviesa dicha masa, al mismo tiempo en que los granos ganan el calor cedido por el caudal de aire que ingresa a mayor temperatura de la que sale al exterior. La masa de agua contenida por el aire a la salida de la secadora es:

$$\dot{W}_{as} = \dot{W}_{evap} + \dot{W}_{ae} = 8,1 \text{ kg agua}/\text{h} + 4,1 \text{ kg agua}/\text{h} = 12,2 \text{ kg agua}/\text{h}$$

Conocido el caudal de aire seco que ha ingresado al proceso y habiendo calculado la cantidad de agua que contendrá a la salida del equipo, podemos determinar el contenido de humedad del mismo en ese punto:

$$Y_s = \frac{12,2 \text{ kg agua}/\text{h}}{342,2 \text{ kg aire seco}/\text{h}} = 0,035 \text{ kg agua}/\text{kg aire seco}$$

Lo que finalmente, utilizando la carta psicrométrica para temperaturas normales (figura 2) y adoptando una temperatura del aire usado de $T_s = 40^\circ\text{C}$, obtenemos que el mismo abandonará el equipo con la siguiente humedad relativa y volumen específico:

$$H_{Rs} = 74\% \quad V_s = 0,937 \text{ m}^3/\text{kg aire seco}$$

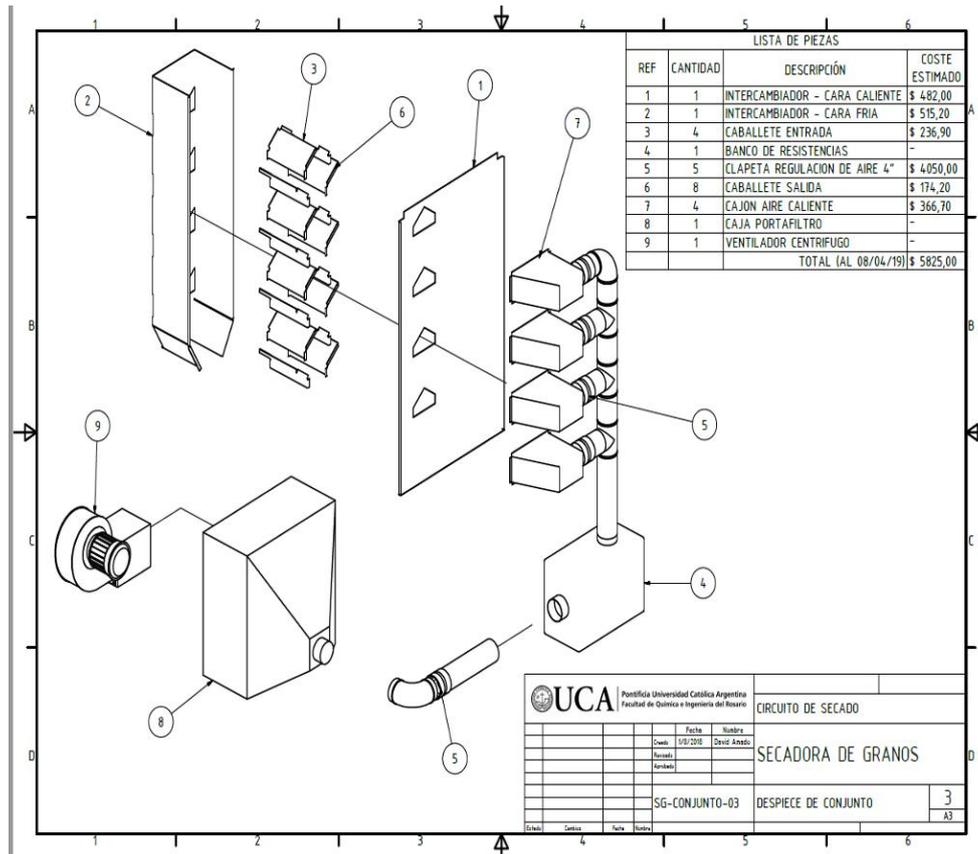


Figura 3: planos de referencia para fabricación

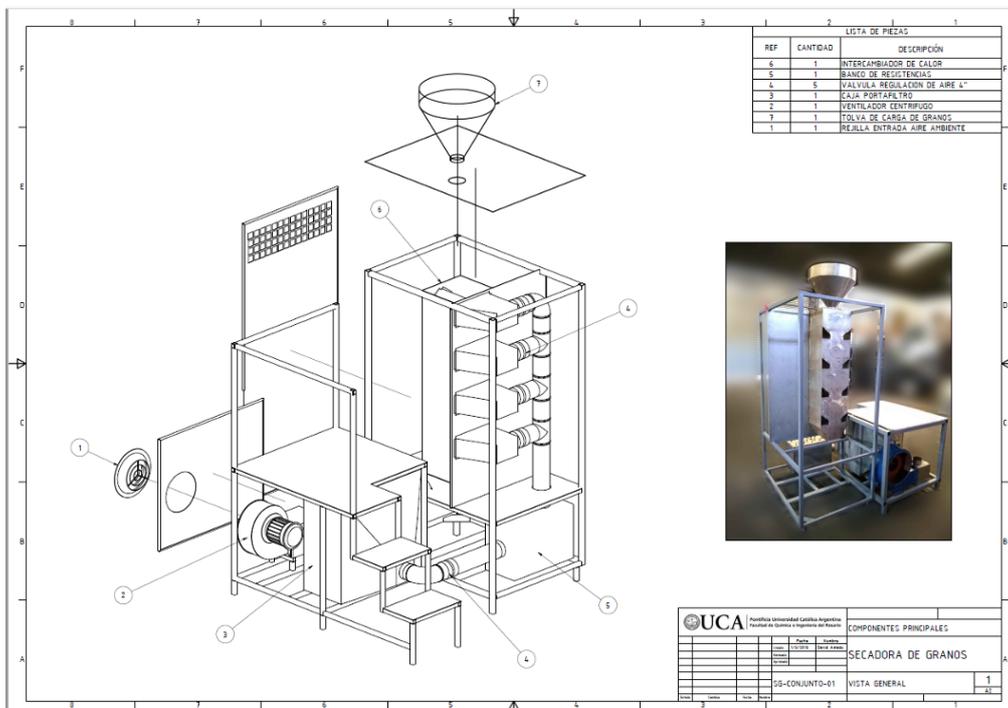


Figura 4: planos de referencia para fabricación II

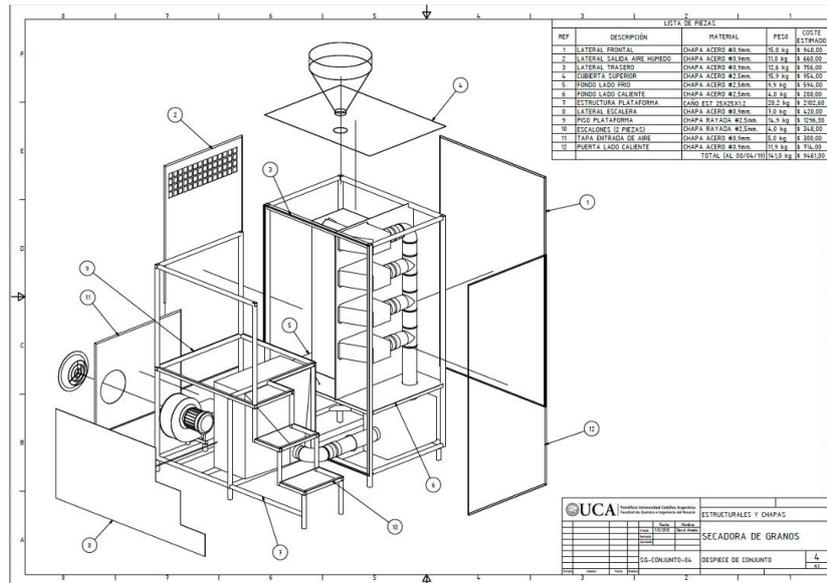


Figura 5: planos de referencia para fabricación III



Figura 6: Registros fotográficos del equipo

5. Variables de control

Cantidad de aire - Caudal

Temperatura aire caliente – (Resistencias de calentamiento)

Temperatura del lecho de granos

Tiempo de residencia – (Velocidad de circulación del grano en el lecho)

Humedad de entrada de granos

Humedad de salida de granos

Flujo en columna para relacionar con tiempo de residencia.

Humedad de entrada / salida del grano en función de parámetros de calidad específicos para cada tipo de grano, (Soja, Maiz, Trigo, etc).

Consumo de energía utilizada para calentamiento de aire seco.

6. Modelado, simulación y control del proceso de secado de granos:

El control de procesos de secado de granos El problema de control de procesos de secado de granos es de gran importancia en la optimización del consumo energético de los mismos y existe una gran cantidad de trabajos dedicados al estudio del mismo. Khatchatourian, Vielmo & Bortolaia¹ desarrollaron un modelo matemático, algoritmos y un programa en computadora para simular el funcionamiento de secadores de granos de flujo cruzado. Describen los procesos de transferencia de masa y de calor mediante un sistema de cuatro ecuaciones diferenciales parciales no lineales; que resuelven a través del método de MacCormack con tiempo fraccionado. Utilizaron el método de Neumann para determinar convergencia. Computarizaron las variables de proceso, incluidas en estas ecuaciones, mediante el uso de ecuaciones auxiliares semi-empíricas obtenidas a partir de datos experimentales de secado de grano en capa delgada. El equipo que desarrollaron para obtener estos datos les permitió variar los valores iniciales de humedad, temperatura y velocidad del aire. Realizaron simulaciones utilizando varios programas de control para determinar el impacto en el consumo de energía y el funcionamiento del secador de flujo cruzado al recircular aire gastado procedente de varias etapas del secador. Utilizaron un proceso iterativo para determinar las condiciones iniciales a la entrada de cada sección del secador. Utilizaron simulaciones computarizadas para evaluar la distribución no uniforme de la temperatura y del contenido de humedad en los secadores, la duración del proceso de secado y la eficiencia energética para cada geometría y programa de control.

A. G. Barbosa de Lima y otros² se enfocan en el secado de sólidos húmedos en secadores de flujo cruzado (sistema de secado continuo) con particular referencia a los granos. Presentan, con detalles, tópicos relacionados al grano, principios del secado, tipos y selección de secadores, y modelos de secado. Presentan y discuten un modelo matemático de un secador de flujo cruzado, considerando la influencia de la porosidad del lecho y términos temporarios. Resuelven numéricamente las ecuaciones de conservación gobernantes, usando el método de los volúmenes finitos. Para analizar la influencia de los principales parámetros de secado en la calidad del producto al final del proceso, presentan resultados de humedad promedio y temperatura del aire y temperatura y contenido de humedad del sólido a lo largo del proceso, que analizan y comparan con datos experimentales.

Según Marinos-Kouris y otros³ el uso de computadoras para realizar simulaciones de procesos en ingeniería química ha dirigido el desarrollo de herramientas de software que realizan los cálculos más tediosos en el campo de análisis de procesos, modelos matemáticos y diseño. En el caso de secaderos, estos aspectos de programación matemática pueden ser tratados de forma sencilla. Presentan y analizan modelos matemáticos de todos los modelos de secaderos convectivos más usados. Discuten ampliamente las propiedades termofísicas y de transporte de materiales y del aire involucrado en el desarrollo de los modelos matemáticos. Esbozan y discuten la simulación de los procesos de secado convectivo facilitado por la tecnología de las computadoras modernas. Describen y realizan diseños de secaderos industriales convectivos a través de las herramientas de simulación desarrolladas. Introdujeron técnicas de diseño que permiten obtener información de resultados de diseño de parámetros de proceso y de variables de varios niveles, para integrarlas en curvas de diseño que arrojan valores de estructura del secadero y condiciones de operación óptimas, relacionadas con el costo.

Torrez N. y otros⁴ estudiaron el secado de granos en secaderos de lecho móvil y flujo cruzado, teórica y experimentalmente. Analizaron dos configuraciones diferentes de secaderos, un secadero con distribución de aire central y otro con múltiples ingresos de aire. La información experimental la obtuvieron en secaderos a escala piloto. Desarrollaron un modelo matemático para simular el proceso. Utilizaron el concepto de velocidad de secado relativa para contabilizar áreas que obstaculicen el secado. Para contabilizar las incertidumbres del área de contacto y de los coeficientes de transferencia encontrados en la literatura, utilizaron un factor ajustable, específico para los secaderos. Consideran que encontraron concordancia bastante buena entre los resultados experimentales y las simulaciones. Las simulaciones mostraron que la distancia entre el ingreso del aire y los dispositivos de salida, la relación entre los flujos de aire y de sólido, y la relación entre la altura del secadero y su sección transversal tienen mucha influencia en el proceso. Según ellos, el modelo matemático puede ser una herramienta útil para explorar el proceso y optimizar este tipo de secaderos.

L. Vázquez-Chávez y otro⁵, secaron, en un secador de lecho fluidizado, dos variedades de trigo a diferentes temperaturas y analizaron la calidad final del trigo en cada caso. El secado es un proceso que disminuye la humedad de los granos y contribuye a conservarlos. No obstante, cuando el secado se lleva a cabo sin control adecuado de la temperatura, la calidad del trigo puede perderse la mayoría de las veces, sin alteración visual del grano. Para esta investigación utilizaron un equipo secador de lecho fluidizado a nivel de planta piloto, y trabajaron con dos variedades comerciales de trigo, con diferentes contenidos de humedad inicial y diversos tiempos y temperaturas de secado.

Los trabajos pioneros de Pratt, Rumsey y Palazoglu⁶, en este sentido nos sirven como guía para desarrollar un modelo de proceso representativo del secado de granos, ya sea para estudiar su dinámica como para diseñar el sistema de control. El modelo propuesto por estos autores, además de resultar adecuado al proyecto de planta piloto de UCA, resulta de una mayor utilidad para la simulación de la dinámica y el control del secado de granos, por razones de naturaleza computacional.

Una vez que han quedado definidas las ecuaciones diferenciales en derivadas parciales (PDEs) que gobiernan el proceso, este autor recurre a un método computacional para resolver dicho sistema y poder además desarrollar un simulador dinámico del proceso controlado. Así, recurre al denominado el Método de las Líneas (MOL, METHOD OF LINES), el cual se basa en aproximar las PDEs por un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias, (EDOs). Nuestra línea de trabajo profundizará, la resolución del modelo mediante el método de las líneas, pero aplicaremos técnicas numéricas novedosas de resolución del sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias, que han demostrado, estos últimos años, tener una gran eficiencia para la resolución de problemas en esta área⁸.

La herramienta básica de todos los métodos tradicionales de integración de EDOs es la discretización de la variable temporal, si bien esta discretización puede ser constante o variable, en cualquiera de los casos, el modelo de simulación aproximado que se obtiene corresponde a la categoría de los sistemas de tiempo discreto. En los últimos años, sin embargo, se han desarrollado diferentes métodos que en lugar de obtener un modelo de simulación de tiempo discreto, obtienen un modelo de eventos discretos y una de las formas de arribar a estas clases de sistemas es reemplazar la discretización temporal por la discretización o cuantificación de las variables de estado del sistema. Se define así, una nueva categoría de sistemas denominada Quantized State Systems (QSS) que pueden ser exactamente simulados por un sistema de eventos discretos bajo el formalismo DEVS^{7,8}.

El formalismo DEVS permite representar todos los sistemas cuyo comportamiento entrada / salida pueda describirse mediante una secuencia de eventos. Dentro de este formalismo se pueden construir modelos jerárquicos de una manera simple. Un modelo DEVS está compuesto por sub-modelos atómicos que pueden ser combinados en modelos acoplados, dado que los sistemas complejos generalmente se piensan como el acoplamiento de sistemas más simples. A través del acoplamiento, los eventos de salida de unos sub-sistemas se convierten en eventos de entrada de otros subsistemas. La teoría de DEVS garantiza que el modelo resultante de acoplar varios modelos DEVS es equivalente a un nuevo modelo DEVS. En cuanto a la implementación de los métodos de integración QSS podemos decir que una forma muy sencilla y eficiente es la que podemos obtener mediante el formalismo DEVS⁹. Específicamente con lo que denominamos un motor de simulación DEVS podemos implementar estos métodos de integración. Ahora bien, la implementación de los métodos QSS basados en el formalismo DEVS obligan a dar una descripción de bloques del modelo, sin embargo existen lenguajes de modelado de alto nivel que permiten variados tipos de representaciones y que son utilizados por gran parte de la comunidad de modelado y simulación. Ya en la década del 70 se comenzaron a desarrollar lenguajes de modelado específicos que permiten describir el modelo a simular de una manera estructurada e independiente del motor de simulación utilizado. Producto de este esfuerzo, en las últimas décadas se desarrolló un estándar llamado MODELICA¹⁰ que se fue adoptando ampliamente por la comunidad de modelado y simulación.

MODELICA, es un lenguaje de modelado de alto nivel orientado a objetos que permite describir sistemas complejos y heterogéneos de gran escala permitiendo además reutilizar y componer modelos de manera sencilla. Los modelos en este lenguaje son definidos por ecuaciones diferenciales, algebraicas y discretas. Existen además, numerosas herramientas de software que permiten describir estos modelos. Existen también compiladores comerciales y libres que permiten convertir modelos en MODELICA a programas ejecutables.

Si bien, varias de las herramientas de modelado y simulación, como las presentadas anteriormente, están basadas en el mismo lenguaje de programación, C++ o Java, la mayoría no comparte el lenguaje de modelado, teniendo cada una su forma particular de describir un modelo, o componentes del mismo. Esto hace que no sean compatibles unas con otras o no puedan interactuar entre ellas. Además, un especialista que desea modelar y/o simular un sistema con alguna herramienta de modelado y simulación en particular, necesita conocer las características y particularidades del lenguaje de modelado de la herramienta. Por tal motivo, en este proyecto nos propusimos trabajar con la descripción de modelos DEVS abstractos, independiente de cualquier plataforma o implementación, basado en expresiones lógicas y matemáticas. Los modelos que estamos construyendo, utilizando la metodología de modelado CML-DEVS¹¹, luego pueden ser traducidos (compilados) en forma automática al lenguaje de modelado de diferentes herramientas de modelado y simulación. CML-DEVS (por sus siglas en inglés: Conceptual Modeling Language for DEVS) es un lenguaje formal para la descripción abstracta de modelos DEVS, en termino de expresiones lógicas y matemáticas sin involucrar conceptos o nociones de programación. De este modo los ingenieros o especialistas pueden usar CML-DEVS, para escribir modelos DEVS, utilizando matemática cotidiana, tal como fuera propuesto por Zeigler a la hora de definir el formalismo.

7. Conclusiones Importantes

Los avances realizados hasta el momento nos han permitido la construcción del equipo y posible la modelización de variables con este piloto para utilizar en laboratorio y así luego de la operación en condiciones normales sacar conclusiones a medida que se modifiquen las variables. De la misma forma el análisis de las partículas de finos que se mueven a través de un fluido nos permitirá entender y mejorar la seguridad operativa al momento de separarlos del flujo de granos propiamente dicho.

Entonces con la construcción de la planta piloto tendremos la posibilidad de validar o ajustar las ecuaciones matemáticas para poder reproducir fielmente el comportamiento del grano dentro del equipo cuando se realiza el proceso de secado. Además, estamos trabajando sobre el modelado, simulación y control del proceso de secado de granos, utilizando el formalismo DEVS y recurriendo a herramientas informáticas que permiten implementar este formalismo de una manera eficiente. Para concluir entendemos si en su conjunto logramos el control de las variables del proceso esto nos llevara a la Optimización de energía en procesos de post cosecha de granos de origen agrícola.

8. Agradecimientos

Los autores quieren expresar su agradecimiento a la Pontificia Universidad Católica Argentina (UCA) y a la Facultad de Química e Ingeniería del Rosario por financiar este proyecto de investigación.

Referencias bibliográficas:

- 1.- O.A. Khatchatourian, H.A. Vielmo, L.A. Bortolaia. Modelling and simulation of cross flow grain dryers. Bio systems engineering, Vol. 116 (2013), pp. 335-345 - Journal Homepage: www.elsevier.com/locate/issn/15375110
- 2.- A. G. Barbosa de Lima, R. P. de Farias, S. R. Farias Neto, E. M. A. Pereira and J. V. da Silva. "Transport Phenomena and Drying of Solids and Particulate Materials" – Chapter: "Grain Drying Simulation: Principles, Modeling and Applications", p.p. 45-67 - Federal University of Campina Grande - Campina Grande - Brazil (2014) - ISSN 1869-8433 - ISSN 1869-8441 (electronic) - ISBN 978-3-319-04053-0 - ISBN 978-3-319-04054-7 (eBook).
- 3.- Marinos-Kouris, D., Maroulis, Z. B., & Kiranoudis, C. T. (1998). "Modeling, simulation and design of convective industrial dryers" Drying Technology, 16(6), 993-1026.
- 4.- Torrez, N., Gustafsson, M., Schreil, A., & Martínez, J. (1998). "Modeling and simulation of a crossflow moving bed grain dryers". Drying Technology, 16, 1999-2015.
- 5.- L. Vázquez-Chávez y M. Vizcarra-Mendoza. "Secado por lecho fluidizado del trigo y su calidad". Revista Mexicana de Ingeniería Química Vol. 7, No. 2 (2008) 131-137
- 6.- D. Platt, T. R. Rumsey and A. Palazoglu, "Dynamics and control of cross-flow grain dryers i. model development and testing". Drying Technology, 9:1, 27-60. 1991.
- 7.- F. Cellier and E. Kofman."Continuous System Simulation". Springer, New York, 2006.
- 8.- Francois Cellier."Continuous System Modeling". Springer, New York, 1991.
- 9.- Bernard Zeigler, Tag Gon Kim, y Herbert Praehofer. "Theory of Modeling and Simulation". Second edition. Academic Press, New York, 2000.
- 10.- Modelica Association "Language Specification – Modelica – A Unified Object – Oriented Language for Physical Systems Modeling". Linkoping, Sweden 2006.
- 11.- D. Hollman, M. Cristia, C. Frydman "Translating DEVS conceptual models into simulation models", Simulation Modelling Practice and Theory. Elsevier, volume 57, pages 100-117. 2015.

Desarrollo de técnicas analíticas para la determinación de compuestos químicos presentes en matrices ambientales complejas

M. Sol Herrero¹, Diana Hamann¹, Alberto E. Rouzaut¹, Leonardo M. Pérez^{1,2}, Lucas M. Salvatierra^{1,2}

¹ Grupo de Bio&Tecnología de los Materiales y Medio Ambiente (Bio&TecMA), Departamento de Investigación Institucional, Facultad de Química e Ingeniería del Rosario, Pontificia Universidad Católica Argentina (UCA-Rosario), Rosario Santa Fe, Argentina.

² Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Rosario, Santa Fe, Argentina.

Resumen.

La contaminación del medio ambiente por productos químicos orgánicos e inorgánicos derivados de la actividad humana constituye uno de los problemas más críticos a escala mundial, siendo necesario un abordaje sistemático del problema y la búsqueda de alternativas sustentables y económicas para su solución. Esta situación ha generado un marcado interés en la comunidad científica a partir de la creación de líneas de investigación y proyectos centrados en temas ambientales. Gran parte de estos proyectos se enfrentan con la necesidad de analizar diversos parámetros y concentraciones de contaminantes en matrices complejas, lo cual representa un desafío debido a que muchas de las técnicas analíticas ya desarrolladas fueron pensadas en función de sistemas y matrices sencillas. Por este motivo se evidencia la necesidad de desarrollar técnicas analíticas que contemplen las particularidades del análisis de muestras provenientes de sistemas ambientales complejos; las cuales serán funcionales a diversos proyectos de investigación.

Palabras Clave: técnicas analíticas, matrices ambientales complejas, desarrollo y puesta a punto.

Abstract.

Environment pollution by organic and inorganic chemicals derived from human activity constitutes one of the most critical problems worldwide, being necessary a systematic approach and the search of sustainable and economic alternatives for its solution. This situation has generated a strong interest from various researchers and a lot of projects focused on environmental issues have been created. A large part of these projects are faced with the need to analyze various parameters and concentrations of pollutants in complex samples. These determinations present a challenge because many of the analytical techniques already developed were designed based on simple systems. For this reason, the need to develop analytical techniques that contemplate the particularities of the analysis of samples from complex environmental systems is evident; which will be functional to various research projects.

Keywords: analytical techniques, complex environmental samples, development and optimization.

Introducción

Actualmente se dispone de una gran variedad de fuentes bibliográficas en donde se compilan un importante número de técnicas analíticas, las cuales pueden utilizarse para determinar un sinnúmero de parámetros; y que van desde técnicas de muy sencilla aplicación a determinaciones sumamente complejas de difícil implementación.

Entre estas fuentes pueden nombrarse los “Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales” (APHA, y col. 1992), las técnicas de la Asociación Americana para Pruebas y Materiales (ASTM), las normas de la Agencia de Protección Ambiental (EPA), las técnicas del Instituto Argentino de Normalización y Certificación (IRAM), entre otras.

Estas técnicas propuestas y validadas suelen emplearse como una primera herramienta, una base a partir de la cual se comienza a trabajar al momento de realizar las determinaciones analíticas necesarias en los diversos proyectos de investigación. Sin embargo, en un importante número de ocasiones no es posible implementarlas exactamente como lo especifican las normas. La imposibilidad de implementación surge por diversos motivos, entre los cuales pueden nombrarse: la falta de la configuración precisa del equipamiento requerido, diferencia entre el tipo de muestra para el cual está desarrollada la técnica y el tipo de muestra que se requiere analizar, la técnica no cumple con el objetivo del proyecto de investigación, o los rangos en los cuales se desea trabajar no coinciden, etc. Es en estos casos en los cuales el desarrollo y/o adaptación de las técnicas analíticas resulta indispensable.

Sin embargo, no todos los proyectos de investigación cuentan con integrantes capaces de llevar adelante esta tarea; especialmente cuando equipos complejos deben ser utilizados. El desarrollo, adaptación, implementación y/o validación de técnicas analíticas implica llevar adelante ciertas actividades que demandan una considerable cantidad de tiempo, esfuerzo, experiencia y conocimientos.

Las conclusiones a las que se arriba en una investigación se obtienen a partir del análisis de los resultados de los ensayos experimentales, por lo tanto, la calidad de dichas conclusiones depende enteramente de la calidad de los resultados obtenidos. La calidad de los resultados depende de diversos factores, entre los cuales pueden nombrarse: el diseño del setup experimental, la idoneidad y precisión de las técnicas analíticas aplicadas, funcionamiento/idoneidad del equipamiento utilizado, la capacidad del operador para realizar las determinaciones, etc.

Es decir, que la calidad de los resultados obtenidos depende directamente de las técnicas analíticas empleadas y de su correcta aplicación; es por esta razón que la puesta a punto de estas resulta crucial para los proyectos de investigación que se llevan adelante.

Hasta el momento se ha trabajado en la implementación de técnicas analíticas cromatográficas como ser el desarrollo y puesta a punto de un método para la extracción y cuantificación de compuestos del diésel en matrices acuosas y en suelo; la cuantificación de compuestos volátiles utilizando la técnica headspace-GC; la determinación de atrazina y otros compuestos similares utilizando HPLC y extracción en fase sólida; determinación de compuestos azufrados en matrices gaseosas utilizando PFPD-GC; etc.

La importancia de esta tarea se destaca también en aquellos proyectos relacionados con nuevos desarrollos, transferencia y servicios. En este sentido se viene trabajando con empresas que requieren un abordaje de ciertos problemas distinto al técnico tradicional. En estas situaciones se hace indispensable el trabajo personalizado con las técnicas analíticas donde un mero análisis de laboratorio no brindaría la información necesaria o de la calidad necesaria. Un caso particular fue el desarrollo de un método de cromatografía gaseosa específico para separación, identificación y cuantificación de compuestos presentes en mezclas de solventes. También, se ha trabajado en la caracterización de efluentes industriales complejos, en donde las técnicas tradicionales no pueden ser aplicadas, con el fin de desarrollar sistemas de tratamiento innovadores que posibiliten la adecuada disposición final de los mismos.

Actualmente se cuenta con la necesidad de identificar y cuantificar ácidos grasos en matrices ambientales. Se pretende seguir la evolución de la concentración de ciertos ácidos grasos con el objetivo de modelar la cinética de una biorreacción. Generalmente las técnicas de determinación de ácidos grasos están pensadas para matrices alimenticias, ya que es un parámetro que caracteriza la calidad de un alimento, es común que sean determinados en aceites de diferente origen y en lácteos. Sin embargo, la matriz ambiental es significativamente diferente a un alimento, por lo que necesariamente las técnicas existentes deben adaptarse.

Metodología

La metodología específica deberá considerarse para cada técnica. De manera generalizada consiste, en una primera etapa, en definir los objetivos de la técnica y el campo de aplicación de esta. A continuación, debe realizarse una búsqueda bibliográfica, de manera de definir a priori el instrumental necesario para llevar adelante el desarrollo. Una vez seleccionada la técnica más adecuada se procederá a realizar los ensayos experimentales y ajustes necesarios con el fin de ponerla a punto y optimizarla. Luego de finalizada la optimización se deberán realizar las correspondientes curvas de calibrado en los diferentes rangos de trabajo, y se generará un protocolo de procesamiento y medición de muestras para que sea utilizado por las diferentes líneas.

Esta metodología se aplicará cada vez que sea necesario, en función de las demandas específicas que se vayan generando de los proyectos de investigación, de transferencia o servicios.

Para cada técnica en particular se deberán considerar las siguientes etapas:

- a) Análisis de bibliografía con el fin de identificar la metodología y el instrumental, a priori, más adecuados para la determinación del compuesto/s y/o parámetro/s que son objetos de estudio.
- b) Ajuste, puesta a punto y optimización de la técnica; a partir de ensayos experimentales y análisis de muestras.
- c) Elaboración de las curvas de calibrado para los compuestos, de acuerdo con los rangos de trabajo necesarios.
- d) Elaboración del protocolo de procesamiento de las muestras y posterior análisis.

Entre las tareas que se desarrollarán se incluye el acondicionamiento y mantenimiento del equipamiento con el que se cuenta en los laboratorios de la facultad, principalmente de los cromatógrafos gaseosos y el cromatógrafo líquido. Así como también el control y manejo de los gases especiales y sus instalaciones.

Bibliografía

APHA, AWWA y WPCF (1992). Métodos Normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. *Ediciones Días de Santos, S. A.*

Gestión Integral de Residuos Informáticos

Rodríguez, Eduardo; Claudia, Deco; Burzacca, Luciana; Bender, Cristina; Costa Santiago

Departamento de Investigación Institucional. Facultad de Química e Ingeniería del Rosario.

Pontificia Universidad Católica Argentina (PUCA).

Resumen

En la Argentina todavía existe poca conciencia sobre la importancia que posee el tema de los residuos informáticos. Este tipo de residuos tiene un crecimiento exponencial y constante. Produce un gravísimo impacto ambiental y pérdida económica ocasionada a partir de su no reutilización y su no reciclado. Anualmente se generan millones de desperdicios dentro de esta categoría y la velocidad con la que avanza la tecnología hace que diariamente se incorporen mayor cantidad de dispositivos. Existen oportunidades para que dispositivos desechados, luego de un tratamiento adecuado, puedan ser reutilizados con distintos fines. En este trabajo se describe la cadena de valor de los Residuos de Aparatos Eléctricos y Electrónicos y sus actores. Y además se presenta la Planta de Reciclado y Reacondicionado de Material Informático en Desuso describiendo los procesos involucrados en ella.

Palabras Claves: Residuos Informáticos, RAEE, Planta de Reciclado.

Abstract

In Argentina there is still little awareness about the importance of the issue of computer waste. This type of waste has an exponential and constant growth. It produces a very serious environmental impact and economic loss caused by its non-reuse and non-recycling. Millions of wastes are generated annually within this category and the speed with which technology advances causes more devices to be incorporated daily. There are opportunities for discarded devices, after proper treatment, to be reused for different purposes. This paper describes the value chain of Waste Electrical and Electronic Equipment and its actors. And the Recycling and Reconditioning Plant for Disused Computer Equipment is presented describing the processes involved in it.

Keywords: Computer Waste, WEEE, Recycling Plant.

Introducción

Los Aparatos Eléctricos y Electrónicos (AEE) son aparatos que funcionan con corriente eléctrica o campos electromagnéticos y que se utilizan con una tensión nominal menor a 1.000V en corriente alterna y 1.500V en corriente continua; también son aquellos aparatos necesarios para generar, transmitir y medir tales corrientes y campos. Esto incluye desde grandes y pequeños electrodomésticos, como heladeras, lavarropas, planchas o aspiradoras, a equipos de informática y telecomunicaciones, aparatos de iluminación, herramientas eléctricas, equipos médicos o máquinas expendedoras.

Un AEE se convierte en un Residuo de Aparato Eléctrico y Electrónico (RAEE) cuando el usuario lo descarta sin intención de que vuelva a utilizarse. La vida útil varía considerablemente según el tipo de aparato y de factores como la existencia de una cultura de la reutilización, la facilidad de acceso a nuevas tecnologías, la situación económica, entre otros.

Debe tenerse en cuenta que los AEE son aparatos complejos que incluyen numerosas partes y componentes: piezas y carcasas de diversos materiales, plaquetas de circuitos impresos, tubos de rayos catódicos, pantallas de cristal líquido, cables, componentes eléctricos y electrónicos, diversos fluidos, contrapesos de hormigón, cartuchos de impresión, etc. Estos componentes pueden ser de materiales muy diversos, algunos con alto valor de mercado, como chatarra ferrosa y plástica, aluminio, oro, plata o estaño, y otros que pueden ser riesgosos para los ecosistemas y las personas, como plomo, compuestos fluorocarbonados, mercurio, entre otros.

Esto hace que, por un lado, cuando un AEE se descarta tenga sentido recuperar los materiales y componentes valiosos para reinsertarlos en el ciclo productivo - algunas estimaciones indican que el 97% de los componentes y materiales contenidos en un AEE son recuperables o reciclables. Al mismo tiempo, resulta imprescindible hacer una gestión adecuada que minimice los riesgos ambientales. Esto implica que todas las etapas de la gestión de los RAEE deben realizarse en condiciones seguras, sin mezclarse con otros flujos de residuos y evitando manipulaciones o roturas que puedan exponer al ambiente o a los trabajadores.

La gestión de los RAEE representa un problema creciente en un mundo donde el recambio tecnológico es cada vez más acelerado y en el que apenas una fracción mínima de los mismos se recicla o refuncionaliza.

Se estima que el 50% de estos residuos están arrumbados en oficinas, hogares, entes públicos o depósitos; más del 40% se entierra o se descarta en basurales y rellenos y cerca del 10% ingresa en esquemas informales o formales de gestión de residuos [1].

En la Argentina, ésta tampoco es una problemática menor: según los datos del Observatorio Mundial de Residuos Electrónicos [2], en Argentina se generan anualmente alrededor de 8,4 kg de RAEE por persona. Si se multiplica por los 42 millones de habitantes, se obtiene unas 360 mil toneladas de RAEE generados anualmente.

Fernández Protomastro [3][4] estima que entre 50 y 60% de este volumen (entre 180 y 216 mil toneladas) es almacenado en hogares y pequeñas instituciones por desconocimiento sobre el procedimiento de descarte. Entre el 10% y 15% llega a talleres de reparación y servicios técnicos, y entre el 5% y 10% se recicla con el fin de recuperar materiales. Luego de pasar un tiempo almacenado o de atravesar las distintas etapas de recuperación, se calcula que un 60% de los RAEE termina en basurales o rellenos sanitarios.

En particular Rosario no escapa a la problemática. Año tras año crece la cantidad de basura informática que se recibe en los centros de distritos: en el 2017 se recolectaron 9.072 aparatos (que representan 40,5 toneladas de residuos), mientras que en el 2016 fueron 7.612. Respecto al volumen de RAEE generado en la ciudad de Rosario, a partir de los informes de RAEE 2018 [5] elaborado por la Cámara Argentina de Multimedia, Ofimática, Comunicaciones y Afines (CAMOCA) se infiere dicho valor de residuos AEE que se generan en la ciudad de Rosario. Podemos decir que en la actualidad, Rosario genera un total de 104.267,77 Kg/mes de RAEE y teniendo en cuenta la información sobre la recolección del año 2017 de 40.500Kg., concluimos que los distritos recolectan 3.375Kg/mes, lo que implicaría tan sólo un 3.24% del total generado.

Marco Legal

A pesar de este contexto y a que la Argentina ha firmado diversos acuerdos internacionales que involucran sustancias como las contenidas en los RAEE, a la fecha el país no cuenta con normativa nacional que regule y unifique la gestión integral de este tipo de residuos. Algunas jurisdicciones han sancionado instrumentos legales propios, como es el caso de la provincia de Buenos Aires, pero en ausencia de un marco nacional sus principios y conceptos quedan aislados dentro del respectivo territorio. Por ello, la actividad del sector se enmarca dentro de la estructura jurídica ambiental general o de otros tipos de residuos en un país que aún no ha prohibido el desecho de los RAEE como residuos domiciliarios no diferenciados.

Los RAEE: la cadena de valor y sus actores

Al ser desechados, los AEE pasan a ser Residuos de Aparatos Eléctricos y Electrónicos (RAEE). Muchos de ellos se almacenan, a otros se les da disposición final y otros ingresan a la cadena de valor de RAEE.

Generalmente, cuando los desechos ingresan en la cadena de valor de RAEE pasan por una primera etapa de separación y clasificación, luego se desensamblan y finalmente, los distintos componentes pueden: ser utilizados en el armado o remanufactura de un nuevo AEE; o destinarse a la recuperación de materiales para su utilización como materia prima en otros procesos. En nuestro país algunos componentes se exportan y completan su procesamiento en el exterior (por ejemplo, las plaquetas de equipos informáticos). De manera esquemática, la cadena de valor de RAEE puede representarse en el siguiente gráfico:

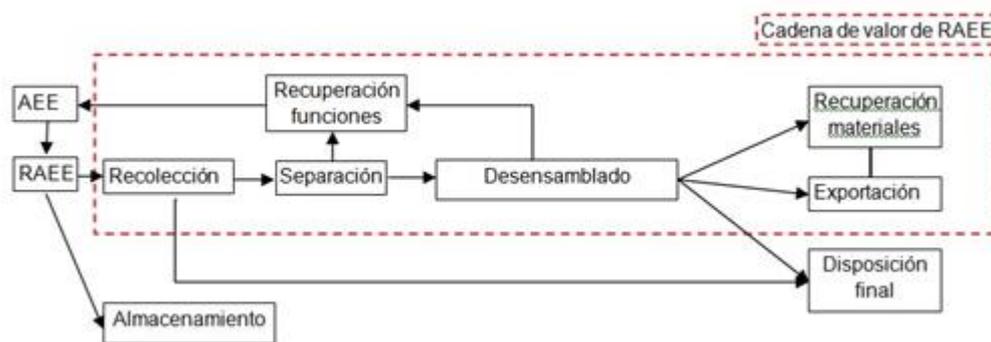


Figura 1. Cadena de valor de RAEE, esquema general Fuente: elaboración propia

La gestión de los RAEE involucra a una diversidad de actores con sus complejidades, desde los usuarios y fabricantes de productos muy diversos, a los distintos tipos de operadores que intervienen en la recolección, el almacenamiento o el tratamiento de RAEE. En la Figura 2 se muestran los actores involucrados.

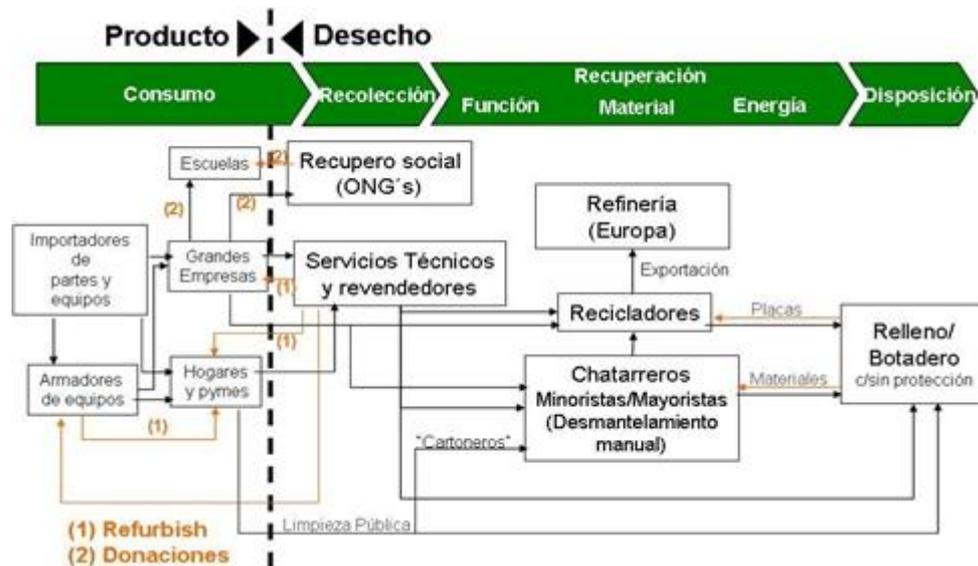


Figura 2. Actores involucrados en la cadena de valor de RAEE. Fuente: Fernández Protomastro, G. (2013). "Minería urbana y la gestión de los recursos electrónicos".

Generación: los RAEE pertenecen a los residuos de generación universal (REGU), lo que implica que todo habitante enfrenta en algún momento la necesidad u obligación de desechar alguno de estos residuos. Así es que su generación tiene múltiples procedencias: instituciones públicas y privadas, hogares particulares y empresas de diversos tamaños que utilizan AEE. También las empresas importadoras, ensambladoras y fabricantes de AEE que producen distinto tipo de materiales de desecho a lo largo de sus líneas de producción. Las características de cada generador determinarán el tipo de residuo que se genere y la forma en que éstos ingresen (o no) en la cadena de valor.

Recolección: incluye una diversidad de actores, desde sistemas municipales de recolección domiciliaria o en puntos verdes, a la efectuada en la vía pública por parte de recuperadores urbanos o cartoneros. Muchas veces los usuarios particulares depositan sus AEE en desuso en talleres de reparación o servicios técnicos, o los acercan a instituciones que llevan adelante iniciativas de carácter social y solidario. Los usuarios institucionales suelen recurrir a empresas especializadas en la operación de residuos peligrosos o de RAEE.

Recuperación de funciones: re-manufacturadores, OSC, servicios técnicos, así como iniciativas de distintas entidades públicas o privadas clasifican y desarmen RAEE para la reutilización del equipo o de sus componentes en el armado de otros equipos. Los componentes que no se pueden reutilizar se descartan, enviándolos a disposición final, o pasan al siguiente eslabón de la cadena que es la recuperación de materiales.

Recuperación de materiales: en esta etapa intervienen plantas de tratamiento que se dedican con exclusividad a RAEE y otras para los que los RAEE son una fracción menor del conjunto de materiales que procesan o reciclan. Dependiendo de los materiales de que se trate, algunos de estos recuperadores exportan y otros se manejan únicamente en el mercado doméstico.

Planta de Reciclado y Reacondicionado de Material Informático en Desuso

Integrantes del equipo de esta investigación participan de la recientemente inaugurada, en Rosario, Planta de Gestión de Residuos Informáticos gestionada por la Asociación Civil Nodo TAU con participación del Grupo Obispo Angelelli y en convenio con el Programa Nueva Oportunidad del gobierno de la provincia de Santa Fe. Además un grupo de alumnas de la Carrera Ingeniería Ambiental está realizando el estudio de Impacto Ambiental de dicha Planta.

A continuación se describe la planta de Reciclado y Reacondicionado de Material Informático en Desuso. La misma no procesa dispositivos y materiales tales como: Pilas y Baterías, Tonner ni Monitores CRT (solamente se realiza testeo de los mismos y se reutilizan los que estén en funcionamiento).

Los procesos que se realizan en la Planta de Reciclado son los siguientes:

1.- *Recepción de material y preclasificación:* descarga del material del transporte y separación en montículos de componentes similares

2.- *Pesaje:* cada tipo de dispositivo se cuenta (de ser posible) y se pesa registrando en una planilla los tipos, cantidades y pesos.

3.- *Clasificación:* se realiza una inspección visual de cada tipo de componente para determinar si puede ser reacondicionado o se destina a reciclado.

4.- *Almacenamiento:* de acuerdo a la clasificación anterior cada material es almacenado en un lugar determinado para su posterior procesamiento.

5.- *Procesamiento:* los materiales recibidos pueden ser sometidos a dos procesos diferenciados.

a) *Desarme:* implica el despiece de cada equipo separando las partes que pueden ser recicladas (plásticos, aluminio, cobre, plaquetas), aquellas que pueden ser reacondicionadas (lectoras, discos, placas, conectores) y aquellas que deben ser destinadas a disposición final (pilas y baterías)

b) *Reacondicionado:* está dividido en varios procesos de acuerdo al dispositivo que se reacondicione.

i) se realiza el chequeo de componentes (tales como discos rígidos, fuentes de alimentación, teclados y mouses) con una eventual derivación a laboratorio para reparación de ser posible.

ii) se realiza el reacondicionado de CPU que supone dos procesos diferenciados. Por un lado el armado y prueba inicial de CPU (colocación en la CPU de todos los componentes necesarios, a saber, disco rígido, memoria, fuente, lectora, placas de expansión, y testeo de estos componentes en conjunto). Por otro lado, se realiza la instalación de sistema operativos y aplicaciones.

iii) Testeo de dispositivos y componentes: testeo y reparación si fuera posible de impresoras, dispositivos de red, monitores planos (LCD y LED), placas de expansión, placas madre. Este trabajo se lleva a cabo en el laboratorio

iv) Prueba final CPU: supone un período de prueba de 7 días mínimo donde se prende y se apaga el equipo, se prueban las aplicaciones, se actualiza el sistema operativo y se evalúa el funcionamiento general del equipo.

Además, la Planta cuenta con un Laboratorio que está destinado al testeo de placas madres y eventual recambio de componentes discretos en las mismas y en fuentes de alimentación y monitores planos. Los procedimientos que se llevan a cabo no difieren de los que se pueden realizar en un laboratorio de electrónica, es decir desoldado y soldado de componentes discretos.

Conclusiones

Con la intención de poder proponer soluciones al problema, en este proyecto se estudian varias líneas de acción: Análisis de legislación específica, Identificación de aspectos e impactos asociados a la actividad de reciclado/recupero de los residuos informáticos, y Diseño de sistemas de logística de recolección que resulten sustentables y viables económicamente e inspirados en las mejores prácticas de gestión ambientales existentes a nivel mundial.

Aun cuando los trabajos de este proyecto se encuentran sin finalizar podemos esbozar algunas conclusiones preliminares:

- La normativa específica es escasa y la existente encuadra estos residuos dentro de los residuos peligrosos haciendo dificultosa la tarea de gestión.
- La inexistencia de normativa específica que fije las responsabilidades de cada actor dentro de la cadena de valor hace que esta no pueda ser desarrollada en todo su potencial
- Las cuestiones de logística (recolección y acopio) no son menores y deben ser debidamente consideradas dentro del proceso de gestión para que la cadena de valor no pierda sentido.
- El proceso de gestión de residuos informáticos es ante todo un proceso de gestión de residuos y más allá que los AEEs puedan ser reutilizados, alguien debe pagar por este proceso. De aquí surge la necesidad de normativa específica y adecuada fiscalización como ocurre con los demás residuos (domiciliarios, industriales, etc)

Referencias

[1] Basura Electrónica, Disponible en <http://www.greenpeace.org/argentina/es/campanas/contaminacion/basura-electronica/> Consultado 03/12/2018

[2] Baldé, C. P., Forti, V., Gray, V., Kuehr, R., & Stegmann, P. (2017). Observatorio Mundial de los Residuos electrónicos. 2017. Ginebra: ONU.

[3] Fernández Protomastro, G. (2014). Buenas Prácticas para la gestión de los residuos de aparatos eléctricos y electrónicos - RAEE. 1a ed. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Grupo Uno. 178 p. ISBN 978-987-29862-3-0

[4] Fernández Protomastro, G. (2013). Minería Urbana y la Gestión de los Residuos Electrónicos. - 1a ed. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Grupo Uno. 317 p. ISBN 978-987-29862-1-6

[5] Cámara Argentina de Multimedia, Ofimática, Comunicaciones y Afines (Camoca). Disponible en: <http://www.camoca.com.ar/>

Introduciendo conocimientos sobre el Pensamiento Computacional en los primeros años de las carreras de ciencia, tecnología, ingeniería y matemáticas

Pamela Viale, Claudia Deco

Departamento de Investigación Institucional, Facultad de Química e Ingeniería del Rosario,

Pontificia Universidad Católica Argentina (UCA), Rosario, Argentina.

Resumen

En la actualidad, las computadoras se encuentran accesibles para cualquier persona y permiten asistirle en la resolución de problemas de la vida cotidiana de manera automática y/o semi-automática mediante el uso de aplicaciones. Es por esta razón que los individuos de la sociedad actual deben pasar de ser meros consumidores de aplicaciones a productores o, al menos, concedores de los fundamentos de la informática, para poder aprovechar el poder de cálculo y procesamiento de las nuevas tecnologías. Teniendo este objetivo en mente se propuso el proyecto actual para enseñar las bases de la informática a los alumnos del primer año de las carreras de ingeniería industrial, ingeniería ambiental, licenciatura en química y licenciatura en tecnología de los alimentos de nuestra universidad, ya que, si bien no son específicos de cada especialidad, constituyen una base de conocimiento esencial para cualquier profesional hoy en día.

Palabras Claves: Pensamiento Computacional, Resolución de Problemas, Automatización, Programación

Abstract

Nowadays, computers are accessible to any person and allow him/her to solve everyday problems in an automatic and/or semi-automatic way through specific applications. It is for this reason that individuals in today's society must transform from being mere consumers of applications to producers or, at least, have knowledge about the fundamentals of computer science, in order to take advantage of the computing and processing power of new technologies. With this objective in mind, the current project was proposed to teach the basics of computer science to the students of the first year of the careers of industrial engineering, environmental engineering, chemistry and food technology from our university. Although these knowledges are not specific to these careers, they constitute an essential knowledge base for any professional today.

Key Words: Computational Thinking, Problem Solving, Automatization, Programming

Introducción

Desde hace ya varios años, en Argentina y en el resto del mundo, quedan miles de puestos de trabajo sin cubrir en las áreas de ciencia, tecnología, ingeniería y matemáticas, usualmente denominadas STEM (Science, Technology, Engineering & Mathematics), por la falta de recursos humanos con la formación y los conocimientos necesarios. Las carreras afines a estas áreas no son de las más populares y existe una gran deserción en los primeros años [Benotti et al., 2012; Dapozo et al., 2014; Beaubouef et al., 2005].

Esto ha sensibilizado a las instituciones educativas a abordar el problema, desde el punto de vista de la formación y aparece el término *Pensamiento Computacional* como un conjunto de conocimientos importantes a desarrollar en todo profesional, independientemente del área en la que vaya a desempeñarse. En 2006 J. Wing, profesora de la Universidad de Carnegie Mellon, utilizó por primera vez este término en un artículo para describir cómo piensa un científico de computadoras y, como acabamos de decir, los beneficios que esta forma de pensar podría tener en todos. Define el Pensamiento Computacional como: "...el proceso de pensamiento envuelto en formular un problema y sus soluciones de manera que las soluciones sean representadas de una forma en que pueden ser llevadas a un agente de procesamiento de información" [Wing, 2006]. [Phillips, 2009] retoma este concepto y lo describe como "la integración del poder del pensamiento humano con las capacidades de las computadoras". En los últimos años, el Pensamiento Computacional descrito por Wing, ha tenido influencia en las investigaciones relacionadas al entendimiento y desarrollo de los procesos de enseñanza y aprendizaje.

Estado del arte

Según la **ISTE** (International Society for Technology in Education) y la **CSTA** (Computer Science Teacher Association) el Pensamiento Computacional es un proceso para la solución de problemas que incluye pero no se limita a

- La formulación de problemas de forma que se pueda usar una computadora y otras herramientas para ayudar a resolverlos.

- Analizar y organizar los datos de forma lógica.
- Representar los datos de forma abstracta como modelos y simulaciones.
- Automatizar la solución con pensamiento algorítmico
- Identificar, analizar e implementar posibles soluciones con la meta de lograr la más eficaz y eficiente combinación de pasos y recursos.
- Generalizar y transferir este proceso de solución de problemas a otros problemas.

La aprehensión de los conceptos y prácticas involucradas en el Pensamiento Computacional se ve favorecida por la implementación de proyectos en algún lenguaje de programación, o sea, programando. Es por este motivo que numerosos lenguajes y entornos de desarrollo fueron creados con fines didácticos. A continuación, se nombran y describen, muy brevemente, algunos de ellos.

Scratch es un lenguaje de programación visual [Resnick et al., 2009], por bloques, desarrollado por el Grupo Lifelong Kindergarten del MIT Media Lab (2007). Permite el desarrollo de habilidades de razonamiento y lógicas mediante el aprendizaje de la programación sin tener conocimientos profundos sobre el código. Este lenguaje de programación se utiliza con fines didácticos para crear animaciones de forma sencilla y servir como introducción al contenido de programación más avanzado. Sin embargo, Scratch tiene ciertas debilidades [Harvey et al., 2010]. Carece de procedimientos recursivos y el soporte de estructuras de datos también es muy básico. Estas debilidades no son descuidados, los diseñadores de Scratch evitaron deliberadamente saturar el lenguaje.

Snap! [Carrasquer, 2019] fue desarrollado por Jens Mönig y Brian Harvey en la Universidad de California en Berkeley, con el objetivo de acercar el poder del lenguaje de programación Scheme y otros conceptos fundamentales de ciencias de la computación en un entorno similar al de Scratch. Durante algunos años, Snap! se desarrolló como una versión modificada de Scratch. La posibilidad de construir bloques propios a partir de otros bloques, fue una de las principales extensiones realizadas, y fue por esto que en un primer momento se lo nombró como BYOB por ser las siglas en inglés de “Build Your Own Blocks” (o bien en español, “Crea Tus Propios Bloques”). Hoy en día, Snap! es un proyecto separado, con un código base completamente independiente de Scratch y con numerosas características nuevas y particularidades propias que lo convierten en un lenguaje adecuado para un estudio serio de las ciencias de la computación así como también para ser utilizado en proyectos de investigación.

Alice es un software educativo libre y abierto orientado a objetos con un entorno de desarrollo integrado (IDE), que fue desarrollado por investigadores de la Universidad Carnegie Mellon, entre los que destaca Randy Pausch. Utiliza un entorno sencillo basado en “arrastrar y soltar” para crear animaciones mediante modelos 3D [UVa Interface Group, 1995]. Este software acepta tanto el modelo de programación orientada a objetos como el modelo dirigido a eventos.

Racket es un lenguaje multi-propósito, derivado de Scheme y Lisp. Desarrollado desde 1994 por Matthias Felleisen y otros, quienes decidieron crear un entorno de programación pedagógico propio llamado DrRacket [Felleisen et al. 2001]. Sus características acogedoras para los estudiantes incluyen soporte para múltiples “niveles de lenguaje” (estudiante principiante, intermedio y así sucesivamente). El lenguaje se utiliza en una variedad de contextos, como scripting, programación de propósito general, enseñanza de computación e investigación. El Massachusetts Institute of Technology (MIT) entre otras universidades, lo emplean como uno de los primeros lenguajes de programación.

Gobstones [Martínez López, 2013] es un lenguaje de programación creado en la Universidad Nacional de Quilmes donde su principal referente es el Dr. Pablo E. Martínez López. Se diferencia de otros lenguajes dedicados a tal fin debido a varias características. La más importante es que busca orientar al programador a un pensamiento denotacional (el “qué” de los programas), en lugar del tradicional pensamiento operacional (el “cómo” o secuencia de instrucciones). Otra de esas características es que el pasaje de este lenguaje a otros utilizados en la industria resulta más sencillo, pues posee conceptos fundamentales comunes a todos los lenguajes (pero con una separación mucho más clara que en ellos), y por la utilización de una sintaxis similar a la de éstos. La sintaxis del lenguaje fue diseñada para ser similar a lenguajes como C y Java ya que posee bloques de código encerrados por llaves, definiciones de procedimientos y funciones, parámetros por valor, variables exclusivamente locales, etc..

Existen numerosos referentes con respecto al estudio del pensamiento computacional. Nos concentramos ahora en dos equipos: el equipo de Karen Brennan de la Universidad de Harvard, perteneciente a la Graduate School of Education, Cambridge, Estados Unidos, y el equipo de Marcos Román-González de la Universidad Nacional de Educación a Distancia (UNED), de Madrid, España.

El grupo de trabajo de K. Brennan [Brennan et al., 2012] ha desarrollado un marco de referencia para el estudio del pensamiento computacional a través del uso online de la herramienta Scratch. Este estudio de la herramienta y, a su vez, la participación en workshops, les ha permitido proponer una definición propia de pensamiento computacional que involucra tres dimensiones diferentes:

1. **Conceptos computacionales**, conceptos que no son exclusivos de la herramienta en cuestión, sino que son comunes a la mayoría de los lenguajes de programación, como por ejemplo, secuencias, bucles, paralelismo, eventos, condicionales, operadores lógicos y matemáticos, datos, etc.
2. **Prácticas computacionales**, el uso sólo de conceptos no es suficiente sino que deben ser usados siguiendo un conjunto de estrategias o prácticas, entre ellas podemos citar la experimentación e iteración, el testeo y debugging, la reutilización de proyectos anteriores, la abstracción y modularización, entre otras.
3. **Perspectivas computacionales**, esto involucra el cambio de mirada que produce el uso de la herramienta en sus usuarios, dado que cambian su forma de expresarse con respecto al área de las ciencias de la computación, aprecian la importancia de conectarse con otros y producir colaborativamente, y se cuestionan sobre el mundo, lo cual les permite darse cuenta que podrían ayudar a resolver problemas cotidianos mediante el desarrollo de herramientas propias.

Con respecto a Marcos Román-González y su equipo, nuestro principal interés se centra en un test, desarrollado por dicho equipo, que permite evaluar los conocimientos que posee un individuo sobre el pensamiento computacional. La Tabla 1 muestra cómo se relacionan las dimensiones propuestas por el equipo de Karen Brennan y el test de pensamiento computacional propuesto por el equipo de Marcos Román-González [Román-González et al., 2017]:

Tabla 1: Relación entre las dimensiones propuestas por el equipo de K. Brennan y el test de pensamiento computacional propuesto por el equipo de M. Román-González

Dimensiones de Karen Brennan	Descripción	Componentes	¿Evaluado por Test de Marcos Román-González?
Conceptos Computacionales	<i>Conceptos usados por durante la programación</i>	<i>Secuencias</i>	<i>Sí</i>
		<i>Bucles</i>	<i>Sí</i>
		<i>Eventos</i>	<i>No</i>
		<i>Paralelismo</i>	<i>No</i>
		<i>Condicionales</i>	<i>Sí</i>
		<i>Operadores</i>	<i>Sí</i>
		<i>Datos</i>	<i>No</i>
Prácticas Computacionales	<i>Prácticas de resolución de problemas usadas durante el proceso de programación</i>	<i>Experimentación e Iteración</i>	<i>No</i>
		<i>Testeo y Debugging</i>	<i>Parcialmente</i>
		<i>Reutilización de proyectos anteriores</i>	<i>Parcialmente</i>
		<i>Abstracción y Modularización</i>	<i>Parcialmente</i>
Perspectivas Computacionales	<i>Cambios que produce aprender a programar</i>	<i>Forma de expresarse</i>	<i>No</i>
		<i>Conexión con otros</i>	<i>No</i>
		<i>Cuestionamientos</i>	<i>No</i>

El test de Marcos Román-González permite evaluar los conocimientos sobre pensamiento computacional teniendo en cuenta la capacidad de abstracción, de descomposición, de reconocimiento de patrones y la habilidad para comprender/corregir algoritmos.

Este test consta de 28 preguntas. A modo de ejemplo de dichas preguntas en las figuras 1 y 2 se muestran las preguntas 1 y 7 respectivamente.

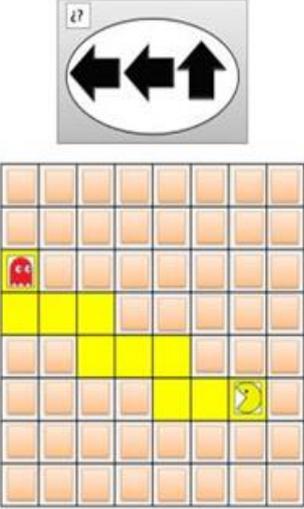
<p>¿Cuántas veces se debe repetir la secuencia para llevar a 'Pac-Man' hasta el fantasma por el camino señalado?</p> 	<p>Opción A × 2</p> <p>Opción B × 1</p> <p>Opción C × 4</p> <p>Opción D × 3</p>
---	---

Figura 1: Pregunta 1 del Test de Marcos Román-González

<p>Para que el artista dibuje una vez el siguiente rectángulo (50 píxeles de ancho y 100 píxeles de alto), ¿en qué paso de la siguiente secuencia de órdenes hay un error?</p> 	<p>Paso A</p> <p>repetir 4 veces</p> <p>hacer</p> <ul style="list-style-type: none"> mover hacia adelante 50 píxeles girar a la izquierda por 90 grados → Paso B mover hacia adelante 100 píxeles → Paso C girar a la izquierda por 90 grados → Paso D
--	--

Figura 2: Pregunta 7 del Test de Marcos Román-González.

Cada pregunta evalúa diferentes capacidades que se resumen en la siguiente tabla [Backmann, 2017]:

Tabla 2: Capacidades evaluadas por las preguntas del Test de Marcos Román-González.

Pregunta	Abstracción	Descomposición	Reconocimiento de Patrones	Algoritmo
1	x			x
2	x			x
3	x			x
4		x	x	x
5		x	x	x
6		x	x	x
7	x	x		
8			x	x
9			x	x
10		x	x	x
11	x	x	x	x
12	x	x	x	x
13	x	x		x
14	x		x	x
15	x	x	x	x
16				x
17			x	x
18			x	x
19				x
20			x	x
21	x	x		x
22	x	x	x	x
23	x	x	x	x
24				x
25	x	x	x	x
26	x	x	x	x
27	x	x	x	x
28	x	x	x	x

Pensamiento Computacional en nuestras carreras

Desde julio de este año, hemos decidido incluir la enseñanza de los conceptos y prácticas involucradas en el pensamiento computacional en las carreras que se dictan en nuestra facultad. Hemos decidido comenzar concentrándonos en las materias Informática e Informática General que se dictan en el primer año de las carreras de Ingeniería Industrial, Ingeniería Ambiental, Licenciatura en Química y Licenciatura en Tecnología de los Alimentos. Se comenzó proponiendo las primeras 22 preguntas del test propuesto por el equipo de Marcos Román-González a nuestros alumnos durante el primer día de clases, tratando así de obtener una idea de los conocimientos sobre el pensamiento computacional con los cuales llegan a nuestra universidad.

A lo largo de todo el cuatrimestre se han desarrollado los contenidos de las materias en cuestión, haciendo fundamental hincapié en aquellos relacionados al pensamiento computacional. Al finalizar el cuatrimestre se solicitará a los mismos alumnos que respondan nuevamente las mismas preguntas y se evaluará si hubo o no mejoras con respecto a los resultados.

Conclusiones

La inclusión de la enseñanza del pensamiento computacional en diferentes carreras permitirá que los nuevos profesionales puedan hacer uso de las nuevas tecnologías para resolver diferentes situaciones problemáticas que se les presenten en su actividad laboral de manera más eficiente. Mediante este proyecto se tratará de no sólo enseñar sino también evaluar el grado de aprendizaje de estos conocimientos básicos en ciencias de la computación. Se tratará de evaluar la didáctica aplicada y el grado de entendimiento por parte de nuestros alumnos, para proponer cambios donde se detecten problemas de aprehensión de conceptos.

Bibliografía

- [Backmann, 2017] C. P. Brackmann. Desenvolvimento do pensamento computacional através de atividades desplugadas na educação básica. Universidade Federal do Rio Grande Do Sul, Centro interdisciplinar de novas tecnologias na educação, Programa de Pós-Graduação em informática na educação, 2017.
- [Benotti et al., 2012] L. Benotti, M. E. Echeveste, F. Schapachnik. Despertando vocaciones en computación mediante el uso de automatistas de chat. In 6tas Jornadas de Vinculación Universidad Industria, 41JAIIO, pp 12-21, 2012.
- [Beaubouef et al., 2005] T. Beaubouef, J. Mason. Why the high attrition rate for computer science students: Some thoughts and observations. SIGCSE Bull., 37(2):103-106, June 2005.
- [Brennan et al., 2012]. K. Brennan, M. Resnick. New frameworks for studying and assessing the development of computational thinking. In Proceedings of the 2012 annual meeting of the american educational research association (vancouver: Canada).
- [Carrasquer, 2019] B. Romagosa i Carrasquer. The Snap! Programming System , pp 1-10. Springer International Publishing, Cham, 2019.
- [Dapozo et al., 2014] G. Dapozo, C. Greiner, G. Pedrozo Petrazzini, J. Chiapello. Vocaciones tic. ¿qué tienen en común los alumnos del nivel medio interesados por carreras de informática? En IX Congreso de Tecnología en Educación & Educación en Tecnología, pp 128-139, 2014.
- [Felleisen et al. 2001] M. Felleisen, R. B. Fidler, M. Flatt, S. Krishnamurthi. How to Design Programs: An Introduction to Programming and Computing. MIT Press, Cambridge, MA, USA, 2001.
- [Harvey et al., 2010] B. Harvey, J. Monig. Bringing "no ceiling" to scratch: Can one language serve kids and computer scientists? Constructionism , 2010, 01/2010.
- [Martínez López, 2013] P. E. Martínez López. Las bases de la programación. Publicado electrónicamente por la Universidad Virtual de Quilmes, La Plata, 1era edition, 12/2013.
- [Phillips, 2009] P. Phillips. Computational thinking: A problem solving tool for every classroom. Disponible en <http://education.sdsc.edu/resources/CompThinking.pdf> (accedido Julio 2019), 2009.
- [Resnick et al., 2009] M. Resnick, J. Maloney, A. Monroy-Hernandez, N. Rusk, E. Eastmond, K. Brennan, A. Millner, E. Rosenbaum, J. Silver, B. Silverman, Y. Kafai. Scratch: Programming for all. Commun. ACM , 52(11):60-67, November 2009.
- [Román-González et al., 2017] M. Román-González, J. C. Perez-González, C. Jiménez-Fernández. Which cognitive abilities underlie computational thinking? Criterion validity of the Computational Thinking Test. Computers in Human Behavior, 72: 678-691, 2017.
- [UVa Interface Group, 1995] UVa User Interface Group. Alice: Rapid prototyping for virtual reality. IEEE Comput. Graph. Appl., 15(3):8-11, May 1995.
- [Wing, 2006] J. M. Wing. Computational thinking. Commun. ACM., 49(3):33-35, March 2006.