

Año 12, PCTI 191-2021-06-12

Celdilla de digestión-lixiviación con membrana semipermeable, sellado hermético y control de temperatura

¹Héctor Nolasco-Soria, ²Francisco Moyano López, ³Jorge Cobos, ⁴Patricia Hinojosa, ⁵Ileana Serrano Fraire.

¹Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C., México, hnolasco04@cibnor.mx

²Universidad de Almería, España

Biotecnología y Ciencias Agropecuarias

Abstract

The determination of digestibility of ingredients and feed is very important for the optimization of the feeding of animals in culture. The objective of the work was to develop a digestion-leaching cell for use at the laboratory level. A novel reactor design was developed that allows the digestion products to be separated through a semi-permeable membrane for their quantification in *in vitro* tests. The reactor has applications in the agri-food, health and education sectors, specifically in the areas of food and nutrition. In the chemical and pharmacy sectors for analysis of the leaching or release of molecules from compounds, tablets or capsules. In the field of education, the invention has a wide application potential in the practical explanation of phenomena such as osmotic balance, molecular size, dialysis, hydrolysis of macromolecules, degree of hydrolysis, digestion, etc. **Keywords:** digestibility, cell.

Resumen

La determinación de digestibilidad de ingredientes y alimentos es muy importante para la optimización de la alimentación de animales en cultivo. El objetivo del trabajo fue desarrollar una celdilla de digestión-lixiviación para su uso a nivel laboratorio. Se desarrolló un novedoso diseño de reactor que permite separar a través de una membrana semipermeable, los productos de digestión para su cuantificación en ensayos *in vitro*. El reactor tiene aplicaciones en los sectores de agroalimentación, salud y educación, concretamente en las áreas de alimentos y nutrición. Los sectores de química y farmacia para análisis de la lixiviación o liberación de moléculas a partir de compuestos, comprimidos o cápsulas. En el campo de la educación, la invención tiene un amplio potencial de aplicación en la explicación práctica de fenómenos como el equilibrio osmótico, el tamaño molecular, la diálisis, la hidrólisis de macromoléculas, el grado de hidrólisis, la digestión, etc. **Palabras clave:** digestibilidad, celdilla.

Problemática

La falta de información sobre la digestibilidad de los ingredientes y alimentos para la acuicultura es un cuello de botella para la optimización de la alimentación de los organismos en cultivo. Este problema repercute en el costo de la producción al ser el alimento uno de los insumos más importantes en términos de costo. Se requiere de instrumentos y técnicas que permitan evaluar la digestibilidad *in vitro*, a nivel laboratorio, con enzimas digestivas puras o extractos multienzimáticos, para la selección de los mejores ingredientes y alimentos para cada especie en sus diferentes estadios de desarrollo. La separación de los productos de digestión de la mezcla de reacción es importante para la cuantificación específica de estos. Por lo anterior, se requiere una celdilla de digestión, con membrana semipermeable, para la cuantificación de la digestibilidad *in vitro*. No se encuentra este tipo de dispositivo en el mercado.

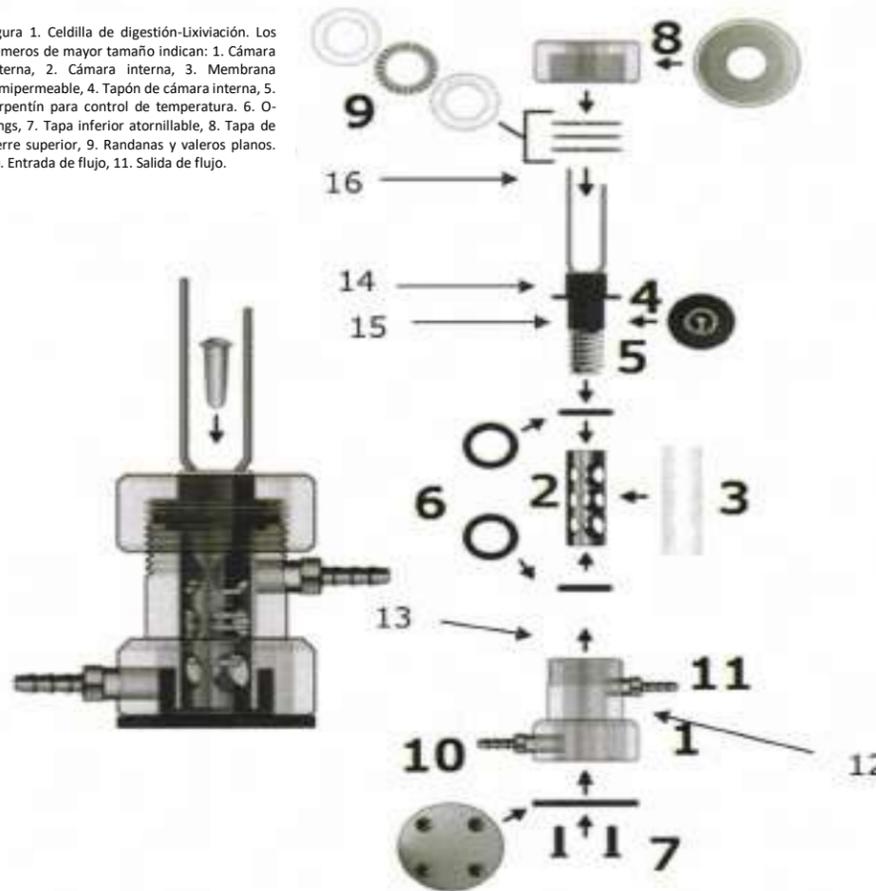
Usuarios

Sector agropecuario, sector farmacéutico, centros de investigación e instituciones de educación superior y media superior, investigadores, profesores de áreas de nutrición, alimentos, farmacia, y de educación media a superior.

Introducción

La alimentación representa uno de los costos más elevados en la producción de organismos por

Figura 1. Celdilla de digestión-lixiviación. Los números de mayor tamaño indican: 1. Cámara externa, 2. Cámara interna, 3. Membrana semipermeable, 4. Tapón de cámara interna, 5. Serpentin para control de temperatura, 6. O-Rings, 7. Tapa inferior atornillable, 8. Tapa de cierre superior, 9. Rاندanas y valeros planos. 10. Entrada de flujo, 11. Salida de flujo.



acuicultura. Esto es particularmente real en los cultivos semi-intensivos e intensivos de camarón, llegando a representar más del 60% de los costos de operación de las granjas acuícolas. Estos costos derivan en gran parte por la fuente de proteína proveniente de harinas de pescado y soya. La tendencia actual de la investigación en nutrición acuícola es la reducción de los costos de formulación y alimentación, para lo cual se buscan nuevos ingredientes y aditivos alimentarios (no convencionales) de buena calidad y bajo costo. Para el aprovechamiento óptimo de los alimentos se requiere que, además de que cumplan con los requerimientos nutricionales del organismo en cultivo, sean altamente digestibles. Por lo anterior es necesario conocer la digestibilidad *in vitro* de insumos y alimentos balanceados, utilizando las enzimas (proteasas y amilasas) digestivas de los organismos, lo que permitirá su adecuado suministro a los sistemas de cultivo. La posibilidad de determinar, en análisis *in vitro*, la digestibilidad de

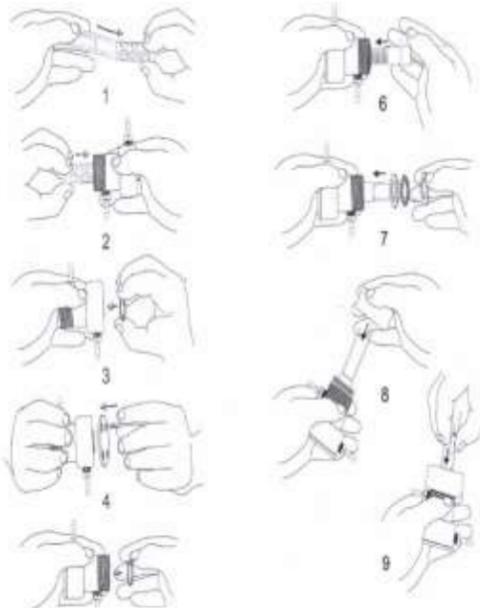


Figura 2. Pasos de armado de la celdilla de digestión-lixiviación

proteínas y carbohidratos de ingredientes alternativos y alimentos, será de utilidad para optimizar la alimentación y la reducción de costos de producción.

Objetivos

Desarrollar un dispositivo de laboratorio que permita evaluar la liberación de los productos derivados de hidrólisis y la digestibilidad *in vitro* de proteínas y carbohidratos.

Materiales y Métodos

Se realizó una búsqueda del estado del arte para identificar dispositivos y las técnicas utilizadas para medir la digestibilidad *in vitro* de ingredientes y alimentos. Con base en lo anterior, se realizó el diseño de una celdilla de digestión-lixiviación, con membrana semipermeable para separar los productos de digestión, control de temperatura para trabajar a temperatura constante y cerrado hermético para evitar fugas de la mezcla de reacción, durante la digestión en el dispositivo. Una vez obtenido el diseño, se construyó el prototipo en el taller de maquinados del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR), para su prueba de funcionalidad en el laboratorio de Fisiología Comparada y Genómica Funcional de CIBNOR. Una vez probado el dispositivo en condiciones de laboratorio, se generaron las solicitudes de patente para su protección industrial en España, a través de la Oficina Española de Patentes y Marcas (OEMP) y en México, a través del Instituto Mexicano de Propiedad Industrial (IMPI) a favor de la Universidad de Almería (UAL) y del CIBNOR.

Resultados y Discusión

El diseño de la celdilla se muestra en la Fig.1. La citada celdilla de digestión-lixiviación con cerrado hermético y control de temperatura, comprende: una cámara externa hueca cilíndrica conformada por una base y un cuerpo hueco de menor diámetro que la base que se extiende verticalmente de dicha base. Esta cámara externa hueca comprende: un extremo abierto conformado en un extremo de la base cilíndrica de cámara externa hueca y un extremo abierto roscado conformado en un extremo del cuerpo recibirá los productos de digestión. Con una entrada de fluido posicionado en la base cilíndrica de la cámara externa y una salida de fluido que permitirá la extracción de los productos de digestión de la celdilla. La cámara interna hueca (donde se lleva a cabo la digestión) está posicionada dentro de la cámara externa, la cámara interna está conformada por un cuerpo cilíndrico con orificios que, al estar cubiertos por una membrana semipermeable, permite la salida de moléculas de bajo peso molecular hacia la cámara externa. La membrana semipermeable está posicionada verticalmente entre la cámara interna hueca y la cámara externa hueca. La celdilla tiene un sistema de control de temperatura conformado por un elemento de transferencia de calor (serpentin) sostenido por un tapón superior de la cámara interna, de forma que, la tapa interna se asiente en el extremo abierto roscado del cuerpo cilíndrico de cámara externa hueca. La

tapa inferior que cierra el extremo abierto de la base cilíndrica de la cámara externa hueca. Además, tiene una tapa superior roscada para cerrar el extremo abierto roscado del cuerpo cilíndrico de la cámara externa hueca. Una pluralidad de sellos herméticos (O-Rings) posicionados entre la tapa inferior, la base cilíndrica de cámara externa hueca, la tapa superior roscada, la tapa interna y el extremo abierto roscado del cuerpo cilíndrico de cámara externa hueca para crear sellos herméticos. La tapa superior tiene rondanas y baleros planos para reducir la fricción al cierre. Esta celdilla posee diez y seis piezas, aproximadamente, y requiere de algunos pasos para su armado, que son fáciles de hacer para un técnico de laboratorio (Fig. 2). Una vez armada, la celdilla tiene dos cámaras selladas herméticamente y que se comunican entre sí solo a través de la membrana semipermeable. El ingrediente o alimento a digerir se coloca en la cámara interna, junto con las enzimas digestivas de la especie en estudio (a través de un orificio del tapón superior). La digestión se realiza a la temperatura deseada (controlada por el serpentin) por ejemplo a 25 °C. A los 15, 30 y 45 minutos de digestión se recupera el buffer de la cámara externa (que contiene los productos de digestión que pasaron de la cámara interna de digestión hacia la cámara externa) y se reemplaza con nuevo buffer. Los productos de digestión se cuantifican químicamente para calcular su concentración. Aminoácidos y péptidos por el método de o-paldehído (OPA) (Nolasco 2020) y los azúcares por el método del ácido dinitrosalicílico (DNS) (Nolasco 2021). Las celdillas de digestión-lixiviación se pueden trabajar de forma simultánea para desarrollar análisis de diversos ingredientes o alimentos o sus réplicas de forma simultánea (Fig. 3).

Se logró el registro de dos patentes sobre una "celdilla de digestión-lixiviación con membrana semipermeable, sistema de cerrado hermético y de control de temperatura", otorgadas por la Oficina Española de Patentes y Marcas (OEMP), con TÍTULO DE PATENTE No. ES 2 524 521 B8 (Fecha de vigencia al 08/10/2032), y en el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (IMPI) con TÍTULO DE PATENTE No. 372134 (Fecha de vigencia al 07/10/2033). En ambas patentes anteriores, los inventores son Héctor Gerardo Nolasco Soria (CIBNOR) y Francisco Javier Moyano López (UAL), y los derechos pertenecen al CIBNOR y la UAL.



Figura 3. Serie de celdillas de digestión-lixiviación sobre un agitador múltiple, en operación.

La invención es un novedoso diseño de reactor de digestibilidad-lixiviación, con una membrana semipermeable, de tamaño de poro intercambiable, para evaluar la digestibilidad *in vitro* de proteínas o polisacáridos, mediante la cuantificación química de estos productos.

Impacto Socioeconómico

Las aplicaciones del reactor se encuadran en los sectores de agroalimentación, salud y educación, concretamente en los sectores de nutrición y alimentación, en los análisis de la biodisponibilidad de proteínas y carbohidratos, en ingredientes y alimentos, para acuicultura. Los sectores de química y farmacia también entran dentro de campo de aplicación de la invención, concretamente en los análisis de lixiviación o liberación de moléculas solubles a partir de comprimidos o cápsulas que contengan moléculas solubles. La invención tiene un amplio potencial de aplicación en la enseñanza a nivel medio y superior para prácticas de enseñanza en laboratorios de física, química y biología.