

Universidad Nacional de Colombia

Rectora: Dolly Montoya Castaño

Vicerrector: Juan Camilo Restrepo Gutiérrez

Decano Facultad de Ciencias: Mauricio Andrés Osorio Lema

Editor Jefe Revista Facultad de Ciencias: Víctor Ignacio López Ríos

Evaluadores Volumen 12 Número 1

Mayvi O. Alvarado, Universidad Veracruzana, México

Arely Anaya Hernández, Universidad Autónoma de
Tlaxcala, México

Víctor Arízaga Ballesteros, Tecnológico de Monterrey,
México

Guillermo Centeno-Bordones, Universidad de Carabobo,
México

Carolina Cucho Espinoza, Universidad Nacional Mayor
de San Marcos, Perú

Jaime García Mena, Cinvestav, México

Libertad Juárez Santacruz, Universidad Autónoma de
Tlaxcala, México

José Gregorio Marcano, Universidad de Carabobo,
México

Elisabeth Restrepo Parra, Universidad Nacional de
Colombia, Colombia

Andrés Reyes, Universidad Nacional Autónoma de
México, México

Diego Rosales, Universidad de la Plata, Argentina

Herbert Vinck Posada, Universidad Nacional de
Colombia, Colombia

Karen Patricia Volke-Sepulveda, Universidad Nacional
Autónoma de México, México

Diagramación en Latex: Universidad Nacional de Colombia, Medellín.

Editado y diagramado en Medellín.

El material de esta revista puede ser reproducido citando la fuente.

Índice

CARACTERIZACIÓN DE LA MICROBIOTA DE LA LECHE MATERNA DE DONANTES Y LAS HECEs DE SUS LACTANTES RESIDENTES EN ANTIOQUIA, COLOMBIA	6
CHARACTERIZATION OF THE MICROBIOTA OF DONOR BREAST MILK AND THE FECES OF THEIR INFANTS RESIDING IN ANTIOQUIA, COLOMBIA	
YARA N. CORREA, SAMANTHA ROLDÁN, OLGA I. MONTOYA, PAULA A. MORENO, NELLY P. CASTILLEJO, ANDREA VELÁZQUEZ-RESTREPO, ALEJANDRA VARGAS-BUITRAGO	
¿CONFINA EL ESPACIO LIBRE A LAS ONDAS Y LAS PARTÍCULAS?.....	24
CAN FREE SPACE CONFINE WAVES AND PARTICLES?	
ROMÁN CASTAÑEDA	
ANÁLISIS DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE HIERRO DESDE EL LODO ROJO GENERADO EN UNA INDUSTRIA DE ALUMINIO VENEZOLANA.....	47
ANALYSIS OF THE EXTRACTION PROCESS OF IRON FROM RED MUD GENERATED IN A VENEZUELAN ALUMINUM INDUSTRY	
DARWIN LÓPEZ,CARLOS LINARES,EDITH FIGUEREDO	
REVISIÓN, CARACTERIZACIÓN Y ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DE NUEVA DELHI METALO- β -LACTAMASA-1 (NDM-1) Y SUS VARIANTES	59
REVIEW, CHARACTERIZATION AND BIOINFORMATIC ANALYSIS OF NEW DELHI METALLO- β -LACTAMASA-1 (NDM-1) AND ITS VARIANTS	
EDUVAN VALENCIA, WILSON OLARTE, MAURICIO GALVIS, FERNANDA SAS-TOQUE	
EL SISTEMA NERVIOSO, UNA VÍCTIMA MÁS DEL SARS-COV-2	77
THE NERVOUS SYSTEM, ANOTHER VICTIM OF SARS-COV-2	
PAULINA LEÓN SÁNCHEZ, ENOCH LUIS	
DINÁMICA DE LA MAGNETIZACIÓN DE UN NANO-DISCO DE Fe EN PRESENCIA DE UN CAMPO MAGNÉTICO EXTERNO APLICADO	85
DYNAMICS OF THE MAGNETIZATION OF AN Fe NANO-DISK IN THE PRESENCE OF AN APPLIED EXTERNAL MAGNETIC FIELD	

MAURICIO GALVIS-PATÍÑO, JOHANS RESTREPO-CÁRDENAS, JOHANA MIRE-
YA NIÑO-ABELLA

COMITÉ EDITORIAL REVISTA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS

<p>Carlos Alberto Cadavid Moreno Ph. D. en Matemáticas, University Of Texas System Profesor Titular Universidad EAFIT email: ccadavid@eafit.edu.co</p>	<p>Jorge Mahecha Gómez Ph D. en Ciencias Física, University Of Belgrade, Serbia Profesor Universidad de Antioquia email: mahecha@gmail.com</p>
<p>Elder Jesús Villamizar Ph. D. en Matemáticas, Universidade Estadual de Campinas, Brasil Profesor Universidad Industrial de Santander email: jvillami@uis.edu.co</p>	<p>Juan Carlos Correa Morales Ph. D. en Estadística, University of Kentucky, Estados Unidos Profesor Asociado Escuela de Estadística email: jccorrea@unal.edu.co</p>
<p>Elizabeth Castañeda Ph. D. Microbiología, Universidad de California at San Francisco, Estados Unidos Investigador Emérito Instituto Nacional de Salud, Bogotá email: ecastaneda21@gmail.com</p>	<p>Juan Darío Restrepo Ángel Ph. D. en Ciencia Marina, University of South Carolina, Estados Unidos. Profesor Universidad EAFIT, Medellín jdrestre@eafit.edu.co</p>
<p>Fanor Mondragón Ph. D. en Ciencias Química, Universidad de Hokaido, Japón Profesor Instituto de Química, Universidad de Antioquia email: fmondra@gmail.com</p>	<p>Rodrigo Covaleta Doctor en Enseñanza de las Ciencias, Universidad de Burgos, España Profesor Jubilado Universidad de Antioquia email: rocovalada@gmail.com</p>
<p>Gustavo Cañas Cardona Ph. D. en Óptica Profesor Universidad del Valparaíso, Chile email: gustavocanascardona@gmail.com</p>	<p>Sandra Bibiana Muriel Ruíz Ph. D. en Ciencias-Biología, Universidad del Valle, Colombia Profesora Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid email: sbmuriel@elpoli.edu.co</p>

COMITÉ CIENTÍFICO

Alberto Germán Lencina

Ph. D. en Física, Universidade Federal da Paraíba, Brasil
Profesor Universidad Nacional de La Plata, Argentina
email: agl@ciop.unlp.edu.ar

Alfonso Castro

Ph. D. in Mathematics University of Cincinnati
Professor of Mathematics, Department of Mathematics
Harvey Mudd College, USA
email: castro@g.hmc.edu

Carlos Augusto Molina Velásquez

Magister Astronomía, Universidade Federal Do Rio De Janeiro.
Planetario de Medellín Jesús Emilio Ramírez, Colombia
email: carlos.molina@parqueexplora.org

Fernando Albericio

Ph. D. en Ciencias Química, Universidad de Barcelona
Investigador principal del Instituto de Investigación Biomédica de Barcelona (IRB Barcelona) y catedrático de química orgánica de la Universitat de Barcelona, España
email: albericio@ub.edu

Jairo Alberto Villegas Gutiérrez

Ph. D. Matemáticas, Universidad Politécnica de Valencia
Profesor Asociado Universidad EAFIT, Colombia
email: javille@eafit.edu.co

Jean-Pierre Galaup

Universidad de Universidad de París Sud - París Saclay
email: jean-pierre.galaup@u-psud.fr

Juan José Ibañez Marti

Ph. D. en Ciencias Biológicas

Científico Titular del Centro de Investigaciones sobre Desertificación (CSIC-Universidad de Valencia), España
email: choloibanez@hotmail.com

Luis Raúl Pericchi Guerra

Ph. D. University of London, Imperial College
Department of Mathematics (Mathematical Statistics),
Puerto Rico
email: luarpr@gmail.com

Michael Seeger

Ph. D. Instituto Gesellschaft für Biotechnologische Forschung in Braunschweig, Alemania
Profesor Titular de la Universidad Técnica Federico Santa María en Valparaíso, España
email: michael.seeger@gmail.com

Mónica Reinartz Estrada

Ph D. Ciencias de la educación, Universidad de Montreal-Canadá
Profesora Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín
email: mreinar@unal.edu.co

Sandra Milena Hurtado Rúa

Ph.D. Statistics, University of Connecticut
Assistant Professor Department of Mathematics, Cleveland State University, USA
email: s.hurtadorua@csuohio.edu

Zbigniew Jaroszewicz

Ph. D. en Física, Institute of Physics of Warsaw University of Technology
Profesor Instituto de Óptica Aplicada de Varsovia, Polonia
email: mmtzjaroszewicz@post.home.pl

CARACTERIZACIÓN DE LA MICROBIOTA DE LA LECHE MATERNA DE DONANTES Y LAS HECE DE SUS LACTANTES RESIDENTES EN ANTIOQUIA, COLOMBIA^a

CHARACTERIZATION OF THE MICROBIOTA OF DONOR BREAST MILK AND THE FECES OF THEIR INFANTS RESIDING IN ANTIOQUIA, COLOMBIA

YARA N. CORREA^b, SAMANTHA ROLDÁN^b, OLGA I. MONTOYA^{c*}, PAULA A. MORENO^d,
NELLY P. CASTILLEJO^e, ANDREA VELÁZQUEZ-RESTREPO^d, ALEJANDRA
VARGAS-BUITRAGO^f

Recibido 26-10-2021, aceptado 08-08-2022, versión final 08-09-2022

Artículo Investigación

RESUMEN: La leche materna humana es un alimento integral para los infantes en los primeros meses de vida y por diferentes factores como la morbilidad de la madre, que afecta la lactancia, se recurre a los Bancos de Leche. Este fluido biológico contiene una microbiota con propiedades probióticas, que ayuda al metabolismo de los nutrientes y la maduración del sistema inmunológico principalmente, beneficios que se ven reflejados en la salud del humano hasta la adultez. Se planteó caracterizar la microbiota de la leche humana de donantes y las heces de sus lactantes, provenientes del Banco de leche del Hospital General de Medellín y de mujeres residentes en Antioquia, recolectando un total de 134 muestras. Por identificación morfológica bioquímica o análisis molecular, se encontraron microorganismos con propiedades probióticas principalmente, *Lactiplantibacillus plantarum* y *Enterococcus faecium*, y de alterantes, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y las levaduras. Se comprobó que la leche materna contiene una microbiota nativa que incluye microorganismos comensales y otros con propiedades probióticas, que la presencia de estos últimos se disminuye después de la pasteurización y es necesario implementar pruebas adicionales para la identificación de Bacterias Ácido Lácticas y evitar un descarte innecesario de la leche.

PALABRAS CLAVE: Leche materna; banco de leche humana; propiedades probióticas.

^aYara N. Correa, Y. N., Roldán, S., Olga I. Montoya, O. I., Paula A. Moreno, P. A., Castillejo, N. P., Restrepo, A. V. & Buitrago, A. V. (2023). Caracterización de la microbiota de la leche materna de donantes y las heces de sus lactantes residentes en Antioquia, Colombia. *Rev. Fac. Cienc.*, 12 (1), 6–23. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.fac.cienc.v12n1.99209>

^bMagister en Ciencias-Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Medellín, Colombia.

^cProfesor Asociado, Universidad Nacional de Colombia, Escuela de Biociencias, Facultad de Ciencias.

* Autor para correspondencia: oimontoy@unal.edu.co

^dIngeniera Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia.

^eAssociated Professor, Universidad CES. Certified in selection and quality control of human milk by the Colombian Ministry of Health. Coordinator of the Milk Bank of HGM

^fEstudiante Ingeniería Química, Facultad de Minas, Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia

ABSTRACT: Human breast milk is an integral food for infants in the first months of life and due to different factors, such as maternal morbimortality, which affects lactation, Milk Banks are resorted to. This biological fluid contains a microbiota with probiotic properties, which helps the metabolism of nutrients and mainly the maturation of the immune system, benefits that are reflected in human health until adulthood. The objective was to characterize the microbiota of human milk from donors and the feces of their infants, from the milk bank of the General Hospital of Medellín and from women residing in Antioquia, collecting a total of 134 samples. By morphology, biochemical identification or molecular analysis, microorganisms with probiotic properties were found, mainly *Lactiplantibacillus plantarum* and *Enterococcus faecium*, and alterants like, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and yeasts. It was found that breast milk contains a native microbiota that includes commensal microorganisms and others with probiotic properties, that the presence of the latter decreases after pasteurization and that it is necessary to implement additional tests for the identification of Lactic Acid Bacteria to avoid unnecessary discarding of milk.

KEYWORDS: Breast milk; human milk bank; probiotic properties.

1. INTRODUCCIÓN

La leche materna es un alimento complejo, con una diversidad de nutrientes y de elementos que favorecen el desarrollo del sistema inmunológico y gastrointestinal, incluyendo una microbiota intestinal nativa proveniente de la madre gestante por la ruta enteromamaria a la glándula mamaria (Fernández *et al.*, 2013). Según el estadio de la lactancia, la leche materna se clasifica en calostro, transición y madura (Léké *et al.*, 2019). En 800 mL de leche materna se pueden encontrar un promedio de 107 Unidades Formadoras de Colonias (UFC) /mL de microorganismos viables (Brandtzaeg, 2010); entre estos están los géneros: *Staphylococcus*, *Weissella*, *Propionibacterium*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, y *Bifidobacterium*, que a la vez serán integrantes de la microbiota intestinal de los lactantes (Osorio & Umbarila, 2015).

Los recién nacidos amamantados tienen menor riesgo a las infecciones microbianas, como la Enteritis Necrotizante (NE) y enfermedades relacionadas con la inmunidad, los beneficios que esta aporta permanecen hasta la edad adulta (Patel & Underwood, 2018), sin embargo, hay factores que pueden poner en riesgo la lactancia como la morbimortalidad materna. Por lo tanto, se crearon los Bancos de Leche Humana (BLH) en Latinoamérica, iniciando en Brasil en 1943. Estos se encargan de recolectar, procesar, congelar y distribuir la leche a los lactantes que la necesitan, implementando un proceso de selección y capacitación de las donantes para una correcta extracción y recolección (De la Academia, 2010).

En Antioquia, Colombia, desde mayo del 2013 hasta la fecha, funciona con certificación el Banco del Hospital General de Medellín, que beneficia el 95.21 % de la población infantil antioqueña y el 4.79 % de otros departamentos. Este se regula con las normas y las especificaciones técnicas, dictadas por la Red Nacional de bancos de leche humana de Brasil (Guimaraes *et al.*, 2004).

En el BLH se realizan análisis fisicoquímicos, como la medición de la acidez titulable expresada en grados Dornic ($^{\circ}D$), siendo caracterizada la leche como ácida cuando presenta un recuento mayor a 105 UFC/mL, la determinación del crematocrito, el proceso de pasteurización, además se realizan las determinaciones microbiológicas (Guimaraes *et al.*, 2004). Cuando las muestras no cumplen ambos parámetros de calidad se descartan.

En la leche materna se encuentran microorganismos viables que pueden ser comensales, alterantes o con propiedades probióticas. Dentro de estos últimos están las Bacterias Ácido Lácticas (BAL), las cuales hacen parte de la microbiota nativa de la leche materna y son esenciales para el buen desarrollo del sistema inmunológico, las BAL deben cumplir con las pruebas respectivas para confirmar las propiedades, según la FAO en 2002 (De la Torre, 2014; De la Academia, 2010).

Se propuso como objetivo del trabajo caracterizar la microbiota de la leche pre y post-pasteurizada de las donantes del banco del Hospital General de Medellín (HGM) y de mujeres residentes en el área metropolitana del Valle de Aburrá, además de la microbiota de las heces de sus lactantes.

2. METODOLOGÍA

2.1. Recolección de las muestras de la leche humana y de las heces de lactante

Se recolectaron en frascos estériles las 40 muestras de leche de donantes del Banco del HGM según los cuatro pasos del proceso para aceptación y descarte de leche: 10 de leche ácida mayor a $8^{\circ}D$ ($LP > 8^{\circ}D$), 10 de leche no ácida menor a $8^{\circ}D$ ($LP < 8^{\circ}D$), 10 de leche pasteurizada (LP) y 10 de leche post-pasteurizada positiva en el caldo Brila ($LPBVG+$). También, se recolectó tras la higiene del pezón las 27 muestras de leche cruda (LC) de mujeres externas al hospital. Además, se recogieron de la superficie del pañal las 67 muestras de las heces de cada lactante con hisopo en tubos con peptona al 1 %p/v (peso/volumen) (Jiménez *et al.*, 2008). Se transportaron a $4^{\circ}C$ al laboratorio de Microbiología de Aguas y Alimentos de la Universidad Nacional de Colombia (UN), sede Medellín. Se determinó el pH para las muestras de leche, el valor del crematocrito y acidez Dornic fue proporcionado por el banco. Hubo consentimiento tanto de las madres como de los directivos y del Comité de Investigación del HGM con registro 01.05052015.

2.2. Aislamiento, recuento y morfología de los tipos de microorganismos

A todas las muestras se le realizó diluciones seriadas (101, 102, 103) en peptona al 0.1 % p/v y se caracterizó por morfología macroscópica en los medios de cultivo específicos. Sólo las leches ácidas se procesaron en dos tiempos, a las cero horas y tras refrigeración a las 24 horas para diferenciar resistencia a temperatura y competencias entre grupos microbianos.

Microorganismos comensales: Se hizo el recuento de los microorganismos mesófilos aerobios según la NTC 4519, en el Agar Plate Count (PC-Merck). Los Coliformes Totales y Fecales según el Decreto 616 de 2006, por el método del Número Más Probable (NMP), en caldo Fluorocult LMX.

Microorganismos alterantes: Se determinó *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva según el Decreto 616 de 2006, en el Agar Baird Parker (BK-Merck). Las levaduras se detectaron en el Agar Extracto de Levadura, Glucosa y Cloranfenicol (YGC-Merck). Y para las bacterias de la familia Enterobacteriaceae se utilizó el Agar Cristal-Violeta Rojo Neutro Bilis Dextrose (VRBD-Merck), y en Agar Eosin Azul de Metileno (EMB-Merck) para confirmar la presencia de *Escherichia coli*.

Microorganismos con propiedades probióticas: Se aisló en agar MRS (de MAN, ROGOSA y SHARPE) con azul de anilina para lactobacilos (Merck), en agar M17 para lactococos y enterococos (Merck), y en Agar Propionato TOS (Merck) con suplemento mupirocina (MUP 100 g/L) para bifidobacterias (Vlková *et al.*, 2009).

Posteriormente se analizaron las frecuencias de UFC/mL y se purificaron los aislados de interés (Talebi, 2017).

2.3. Caracterización de morfología microscópica de los tipos de microorganismos

Tinción de Gram: A cada aislado bacteriano se les clasificó microscópicamente con la coloración de Gram se denominan como: Bacilos Gram Negativos (BGN) y Cocos Gram Positivos (CGP) (Smith & Hussey, 2019).

Prueba de la Catalasa: A cada aislado bacteriano se les diferenció bioquímicamente con peróxido de hidrógeno al 10% v/v (Tankeshwar, 2013).

Prueba de hemólisis: A cada aislado bacteriano en el Agar Sangre al 5% v/v (AS) se le identificó su capacidad de lisar o no los glóbulos rojos humanos (Casarotti *et al.*, 2017).

Prueba de la Oxidasa: A cada aislado bacteriano se les diferenció bioquímicamente según la producción del citocromo oxidasa al utilizar el oxígeno molecular en contacto con el reactivo de amino-N-dimetil-anilina (Tankeshwar, 2022).

Tubo germinal: A cada aislado de levadura se clasificó en suero bovino, se incubó a 35°C /2 h y se observó presencia o ausencia de hifas al microscopio (100 X) (Al-Said *et al.*, 2022).

2.4. Pruebas de propiedades probióticas

Los aislados de BAL con características macro y microscópicas de interés ajustados a 0.5 McFarland, se incubaron en Caldo MRS a 37°C /18 h, se centrifugaron a 4000 rpm por 10 minutos, y se separó el extracto del pellet para realizar las siguientes propiedades probióticas (PP) (Moreno *et al.*, 2011).

Las PP primarias seleccionaron los aislados de BAL entre la capacidad de resistir a la acidez (un pH 2.0 con HCl 1M) y a jugos digestivos (sales biliares al 0.3 % p/v), y se hizo recuento en agar MRS de microorganismos viables (UFC/mL) (FAO/WHO, 2002).

Las PP secundarias evaluaron la capacidad de inhibición de los aislados probióticos frente a patógenos, por el método turbidimétrico de microdilución en caldo. El extracto de las bacterias se adiciona en placas multipozo con los patógenos *Salmonella sp.*, *Streptococcus pneumoniae* y *Escherichia coli*. La placa se incubó durante 20 horas con agitación en un lector de placas de ELISA acoplado al espectrofotómetro (MultiskanGo, Thermo), con lectura de absorbancia a una D.O de 600 nm cada hora (Barreras *et al.*, 2012; Wiegand *et al.*, 2008).

2.5. Caracterización bioquímica

Se utilizó la metodología del kit de API 50CHL, el 20E y el 20NE system (BioMérieux, 2018) para la identificación de las BAL, de las bacterias pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae y de los Bacilos gram negativo (BGN) no enterobacterias, respectivamente. Y finalmente se realizó la identificación de las cepas de BAL con el software APIWEB.

3. RESULTADOS

3.1. Parámetros poblacionales y su relación con la microbiota

El promedio de edad de las mujeres donantes fue de 24 años y del lactante fue de tres meses. En las muestras hubo cuatro de calostros, 13 de leche de transición y 50 de leche madura. Además, hubo 67 de heces de lactante.

3.2. Características fisicoquímicas de las muestras de leche analizadas

En la Tabla 1 se reporta el promedio del crematocrito, de acidez Dornic y de pH de cada uno de los tipos de leche.

3.3. Distribución de la microbiota en todos los tipos de muestras de leche analizadas

Se observó un recuento promedio de 3×10^2 UFC/mL de comensales, con mayor frecuencia en leche cruda y ácida, leche que fue descartada, frente a la leche pasteurizada y post-pasteurizada, leche que fue acepta-

Tabla 1: Resultados de los promedios de los parámetros fisicoquímicos en todas las muestras de la leche. *LP > 8°D* (Leche ácida con valor mayor a 8° Dornic); *LP < 8°D* (Leche pre-pasteurizada no ácida con valor menor a 8° Dornic); *LP* (Leche pasteurizada); *LP BVGC+* (Leche positiva en caldo BRILA), Kcal/L (kilocaloría por litro). Fuente: Elaboración propia

Tipo de leche	Crematocrito (Kcal/L)	Ph 0h	pH 24h	Promedio pH	Promedio acidez Dornic
<i>LP > 8°D</i>	N/A	6,47	6,34	6,19	10
<i>LP < 8°D</i>	630	N/A	6,65	6,65	4,2
<i>LP</i>	630	N/A	7,13	7,13	4,2
<i>LP BVGC(+)</i>	596	N/A	6,95	6,95	3,5
Leche cruda	N/A	x	N/A	x	N/A
Promedio total	617	N/A	N/A	6,77	5,47

da. Además, los coliformes totales fueron más frecuentes en la leche ácida, y se confirmó la presencia de coliformes fecales en tres muestras. En la Figura 1, las frecuencias relativas en la leche pre-pasteurizada no ácida de estafilococos, enterobacterias y las levaduras del 80 %, 90 % y 30 %, mientras en las de leche pasteurizada las frecuencias fueron del 10 %, del 70 % y del 10 %, respectivamente. Para la leche ácida a las cero horas fue del 70 % de estafilococos, del 90 % de enterobacterias y del 40 % de levaduras, mientras que, a las 24 horas, las frecuencias disminuyen al 50 %, del 70 % y del 30 %, respectivamente.

En la leche pre-pasteurizada no ácida, hubo recuento de 3×10^2 UFC/mL, las frecuencias fueron del 40 %, del 80 % y del 70 % para enterococos, lactobacilos y bifidobacterias, mientras en las de leche pasteurizada, se obtuvo el mismo recuento de UFC/mL, pero su frecuencia fue del 10 %, del 30 % y del 20 % respectivamente. Y en la leche ácida a las cero horas, las frecuencias fueron del 50 %, del 70 % y del 60 % para lactobacilos, enterococos y bifidobacterias, se obtuvieron los mismos resultados a las 24 horas. En la leche post-pasteurizada, sólo en el 20 % de ellas se contaron entre 8 y 50 UFC/mL de lactobacilos, enterococos y bifidobacterias. En la Tabla 2 se resume la distribución de los microorganismos comensales, los alterantes y los probióticos, en los pasos del procesamiento de la leche en el BLH, además la microbiota de probióticos en las heces. En dos muestras de las leches ácidas $> 8^{\circ}D$ y en una de leche post-pasteurizada se pudo identificar *E. coli*.

3.4. Caracterización morfológica y bioquímica

Las muestras pre y post-pasteurizadas *LP62 > 8D*, *LP63 > 8D* y *LP93 BVGC(+)* correspondieron a *Escherichia coli*, aisladas de agar EMB con colonias verde metálico y al Gram se observaron bacilos Gram negativos, hemolíticos, catalasa positiva y oxidasa negativa. Las muestras post-pasteurizadas *LP94 BVGC(+)* y *LP93 BVGC(+)* se identificaron como *Pasteurella trehalosi* (Con porcentajes de identidad del 92,9 % y del 96,3 % respectivamente), cuyas colonias eran grandes, rugosas y con borde irregular, y al Gram se observaron bacilos Gram negativos, no hemolíticas y catalasa y oxidasa positivas. En la Tabla están reportados los resultados de las pruebas de caracterización bioquímica con el kit API 20NE para *Pasteurella trehalosi*. También se halló en leche cruda, CGP agrupados en racimo (*S. aureus*), BGN pequeños (*Shigella spp.*, *E.*

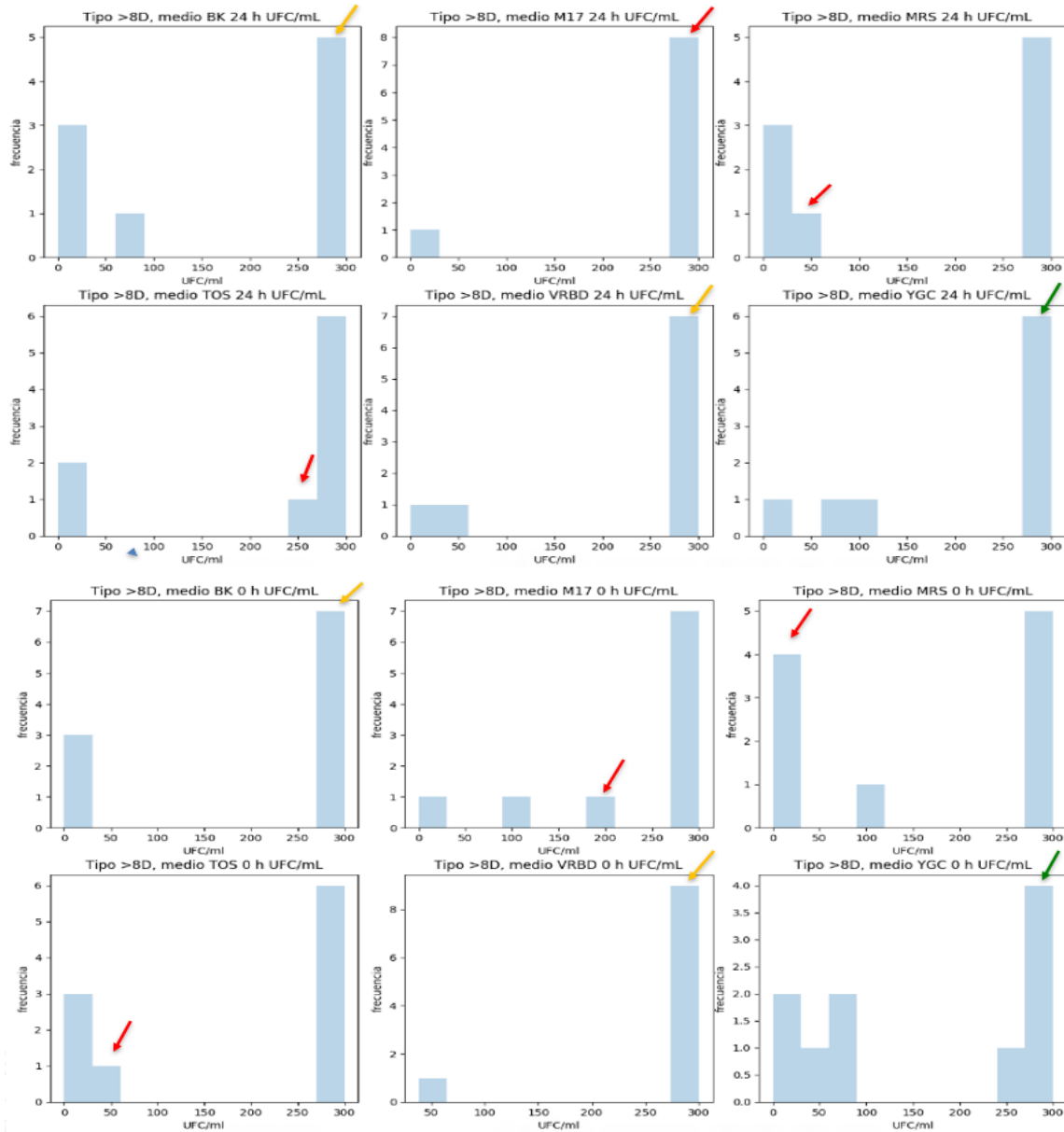


Figura 1: Frecuencia absoluta de la microbiota probiótica y alterantes para las muestras de leche ácida al inicio (0h) y luego de refrigeración (24h) con un pH 6.3. Agar Baird Parker (BK), Agar M17, Agar MRS (de MAN, ROGOSA y SHARPE), Agar Propionato TOS con mupirocina, Agar Crystal-violet neutral-red bile dextrose (VRBD), Agar yeast extract glucose chloramphenicol (YGC). Las Unidades Formadores de Colonia por mililitro (UFC/mL) se señalan con flechas amarillas para *Estafilococos* y *Enterobacteriaceae*, verdes para Levaduras y rojas para Bacterias Ácido lácticas. Fuente: Elaboración Propia.

Tabla 2: Recopilación de frecuencias relativas de todos los tipos de los microorganismos encontrados en todas las muestras analizadas. LC (Leche materna cruda y calostro); $LA > 8D$ (Leche ácida con valor mayor a 8° Dornic); $LP < 8^{\circ}D$ (Leche pre-pasteurizada no ácida con valor menor a 8° Dornic); BVGC+ (Leche positiva en caldo BRILA), H (Heces), No crecimiento (–), No aplica (NA); Unidades Formadoras de Colonia por mililitro (UFC/mL) Fuente: Elaboración propia

<i>CEPAS</i> (%) 3×10^2 (1×10^5 UFC/mL)	LC	$LP > 8^{\circ}D$	$LP < 8^{\circ}D$	LP	<i>LP</i> <i>B</i> <i>BVGC+</i>	H	Frecuencia relativa en probióticos	(AGAR M5)
Coliformes totales	3,0%	12,5%	17,5%	5,0%	5,0%	NA	NA	NA
<i>Escherichia coli</i>	5,0%	6,0%	5,0%	-	-	NA	NA	NA
Otras	1,5%	7,5%	5,0%	-	5,0%	NA	NA	NA
<i>Enterobacteriaceae</i>								
<i>Staphylococcus aureus</i>	13,4%	10,0%	2,5%	-	-	NA	NA	NA
Levaduras	7,5%	20,0%	17,5%	15,0%	5,0%	NA	NA	NA
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	3,0%	-	-	-	-	6,0%	17,6%	Homo láctico
<i>Lactobacillus plantarum</i>	6,0%	7,5%	-	-	-	11,9%	44,1%	Hetero láctico
<i>Lactobacillus paracasei ssp. paracasei</i>	1,5%	-	-	-	-	1,5%	5,9%	Hetero láctico
<i>Enterococcus faecium</i>	1,5%	2,5%	2,5%	5,0%	-	4,5%	23,5%	Hetero láctico
<i>Lactobacillus brevis</i>	-	-	-	-	-	1,5%	2,9%	Hetero láctico
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	-	-	3,0%	5,9%	Hetero láctico

Tabla 3: Resultados de perfil bioquímico para *Pasteurella trehalosi* en API 20 NE. Fuente: Elaboración propia

	<i>LP94 BVGC</i> (+) <i>YGC a</i>	<i>LP93 BVGC</i> (+) <i>YGC a</i>		<i>LP94 BVGC</i> (+) <i>YGC a</i>	<i>LP93 BVGC</i> (+) <i>YGC a</i>
NO ₃ (Nitrato de Potasio)	+	+	MAN (D-Manitol)	—	—
TRP (L-Triptófano)	—	—	NAG (N-Acetil glucosamina)	—	—
GLU (D-Glucosa)	—	—	MAL (D-Maltosa)	—	—
ADH (L-Arginina)	—	—	GNT (Gluconato potásico)	—	—
URE (Úrea)	—	—	CAP (Ácido cáprico)	—	—
ESC (Esculina citrato férrico)	—	±	ADI (Ácido adípico)	—	—
GEL (Gelatina)	—	±	MLT (Ácido málico)	—	—
PNPG (4-nitrofenil-βD- galactopiranosido)	+	±	CIT (Citrato trisódico)	—	—
GLU (D-Glucosa)	—	—	PAC (Ácido fenilacético)	—	—
ARA (L-Arabinosa)	—	—	OX (Oxidasa)	—	—
MNE (D-Manosa)	—	—			

coli, con porcentajes de identidad del 81,6 % y 92,9 %, respectivamente) y levaduras (*Candida albicans*), los cuales fueron catalasa positiva y hemolíticos, confirmados por crecimiento en agar BK, los kits API 20E, API 20C AUX y prueba de tubo germinal al microscopio, que demostró una prolongación de las hifas a partir de una levadura.

El perfil bioquímico de identificación por medio del API 50 CHL para *Levilactobacillus brevis* se reporta en la Tabla 4. Dentro de los microorganismos con propiedades probióticas se encuentran: cuatro aislados de *Enterococcus faecium*, dos provenientes de leches pasteurizadas, uno de leche pre y post-pasteurizada; un aislado de *Leuconostoc mesenteroides* de leche pasteurizada y dos aislados de heces de los lactantes, *Lactocaseibacillus paracasei* y *Levilactobacillus brevis*, y de leche cruda se aisló *Lactiplantibacillus plantarum* y *Lactocaseibacillus rhamnosus*. En la Tabla 4 están reportados los resultados de la caracterización morfológica y algunas pruebas de propiedades probióticas para los microorganismos anteriores. Los resultados de las pruebas probióticas evidenciaron que todos aislados presentaron resistencia a pH ácido y a la concentración digestiva de sales biliares, de los cuales sólo dos cepas lograron inhibir el crecimiento de los tres patógenos. presentaron mejor potencial probiótico *Levilactobacillus brevis* aislado de heces y *Enterococcus faecium* aislado de leche post-pasteurizada.

Tabla 4: Resultados de perfil bioquímico para *Levilactobacillus brevis* en API 50CHL (API 50 CH - H74). Fuente: Elaboración propia

0	—	10-GAL (Galactosa)	+	20-MDM (Metil- α D-Manopiranosido)	—	30-MEL (D- Melobiosa)	+	40-TUR (D- Turanosa)	—
1-GLY (Glicerol)	—	11-GLU (Glucosa)	+	2121-MDG (Metil- α D-Glucopiranosido)	—	31-SAC (D- α Sacarosa)	+	41-LYX (D- α Lixosa)	—
2-ERY (Eritrol)	—	12-FRU α (Fructosa)	+	22-NAG (N- Acetilglucosamina)	+	32-TRE (D- Trehalosa)	+	42-TAG (D- Tagatosa)	+
3-DARA (D- Arabinosa)	—	13-MNE (Manosa)	+	23-AMY (Amigdalina)	\pm	33-INU (Inulina)	—	43-DFUC (D- Fucosa)	—
4-LARA (L- Arabinosa)	+	14-SBF (Sorbosa)	—	24-ARB (Arbutina)	+	34-MLZ (D- Melecitosa)	—	44-LFUC (L- Fucosa)	—
5-RIB Ribosa)	+	15-RHA (Ramnosa)	\pm	25-ECS (Esculina)	\pm	35-REF (D- Rafinosa)	—	45-DARL (D- Arabitol)	—
6-DXYL (D- Xilosa)	—	16-DUL (Dulcitol)	—	26-SAL (Salicina)	+	36-AMD (Almidón)	—	46-LARL (L- Arabitol)	—
7-LXYL (L- Xilosa)	—	17-INU (Inositol)	—	27-CEL (D- Celobiosa)	+	37-GLYG (Glicógeno)	—	47-GNT (Gluconato de potasio)	\pm
8-ADO (D- Adonitol)	—	18-MAN (Manitol)	+	2828-MAL (D- Maltosa)	+	38-XLT (Xilitol)	—	48-2KG (Potasio 2- ceto- gluconato)	—
9-MDX (Metil- β D-Xilopiranosido)	—	19-SOR (Sorbitol)	—	29-LAC (D-Lactosa)	+	39-GEN (Gentiobiosa)	+	49-5KG (Potasio 5- ceto- gluconato)	—

Tabla 5: Resultados de las pruebas probióticas. BGP: Bacilos gram positivos, CGP: Cocos gram positivos, R: Resistencia; NR; No resistencia; C: Crecimiento; NC: No crecimiento del patógeno, *Enterococcus faecium* (*E. faecium*), *Levilactobacillus brevis* (*Lb. brevis*), *Leuconostoc mesenteroides* (*L. mesenteroides*), *Lactacaseibacillus paracasei* (*Lb. paracasei*), *Escherichia coli* (*E. coli*), *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*). Fuente: Elaboración propia

Microorganismos	Características y pruebas probióticas de las cepas				
	Morfología de la colonia	Morfología en Tinción de Gram	pH ácido	Sales biliares a 0.3 %	Antagonismo frente a <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella sp.</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Enterococcus faecium</i> LP70	Blanca, mediana y cremosa	CGP	R	R	NC, NC, C
<i>Enterococcus faecium</i> LP74	Blanca, mediana y cremosa	CGP	R	R	NC C, NC
<i>Levilactobacillus brevis</i> H74	Azul oscuro, grande y brillante	BGP	R	R	NC, NC, NC
<i>Enterococcus faecium</i> LP76 < 8D	Blanca, mediana y cremosa	CGP	R	R	NC, NC, C
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> LP84	Blanca, grande y cremosa	CGP	R	R	NC, C, C
<i>Enterococcus faecium</i> LP80 BVGC (+)	Blanca, mediana y cremosa	CGP	R	R	NC, NC, NC
<i>Lactacaseibacillus paracasei</i> H61	Azul medio, mediana y brillante	BGP	R	R	NC, C, C
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	Blancas, rugosa, opacas	BGP	R	R	NC, NC, C
<i>Lactacaseibacillus rhamnosus</i>	Blancas, cremosas, brillantes	BGP	R	R	C, NC, NC

4. DISCUSIÓN

En el Banco del HGM, se analizó en total siete Litros de leche materna con un promedio del crematocrito de 617 Kcal/L, indicando un valor calórico óptimo para la población infantil, coincidiendo con la investigación realizada por Peixoto *et al.* (2021) donde el 46.4% de las muestras se clasificaron como normocalóricas. Otros reportes realizados con leche materna sin pasteurizar han reportado valores del crematocrito por encima de 700 Kcal/L, clasificándose como hipercalórica, la cual es de suma importancia para los lactantes prematuros o con bajo peso al nacer, disminuyendo la mortalidad y morbilidad (Moreno *et al.*, 2018). Cabe resaltar que este parámetro depende de las características de la madre, el período de lactancia y el almacenamiento de la muestra (Oliveira *et al.*, 2022). Tras la pasteurización, se disminuyó este parámetro, igual a lo obtenido en el Instituto Fernandes Figueira (IFF) de Río de Janeiro, Brasil (Vieira *et al.*, 2004). También hubo una disminución en la acidez Dornic, debido a que el tratamiento térmico destruyó los microorganismos, lo cual concuerda con los hallazgos de Bhisikar *et al.* (2018).

El descarte de leche en el BLH-HGM se realizó por un recuento mayor a 1×10^5 UFC/mL de microorganismos viables en caldo Brila luego de 48h de incubación, pero en este estudio se encontró que un recuento de 3×10^3 UFC/mL de comensales, y una alta acidez, también fue debido a un recuento alto de BAL al desdoblarse la lactosa (Zhao *et al.*, 2020). En las leches ácidas a las 0 y 24 h de refrigeración hubo una disminución del pH y de la carga de comensales y alterantes, mientras las BAL, siguieron creciendo lentamente, lo que supone un control de estas últimas frente a las primeras. Incluso un estudio en el Banco de Leche del Hospital 12 de octubre en Madrid, España realizado por Vázquez *et al.* (2013), indicó que no existe una fuerte relación entre la acidez Dornic y el crecimiento bacteriano, aunque sí tiene una alta sensibilidad a la acidez causada por alta carga de BGN. Por lo tanto, el análisis de la calidad microbiológica y la microbiota nativa de la leche, puede ocasionar que se presente una imprecisión en el criterio de selección fisicoquímico y microbiológico, por tanto, se debería verificar los tipos de microorganismos antes de su descarte.

En el análisis de frecuencia relativa de los microorganismos en todas las muestras, se observó que la leche cruda tenía una menor cantidad de comensales y alterantes, en comparación con la leche pre-pasteurizada del banco, demostrando la importancia de la asepsia en la toma de muestra. Los coliformes y las levaduras fueron los únicos termotolerantes y las enterobacterias, al estar en la leche pasteurizada, indicaron contaminación secundaria en el proceso, lo que sugirió medidas correctivas al banco. Autores han detectado microorganismos contaminantes en muestras de leche materna, Dewitte *et al.* (2015) reportaron la presencia de *Staphylococcus spp.* en leche pasteurizada recolectada en el banco de leche regional del área de Nord-Pas-de-Calais en Francia. De la población de probióticos, tanto *L. brevis* como *E. faecalis* solo fueron detectados en las heces, mientras *L. rhamnosus* y *L. paracasei*, se aislaron tanto de leche cruda como de heces. Finalmente, *L. plantarum* y *E. faecium*, estaban en leche ácida. Reportes previos han identificado estas mismas especies en muestras de leche materna (Murphy *et al.*, 2017; Luz *et al.*, 2021; Anjum *et al.*, 2022) y heces de lactantes (Zhang *et al.*, 2020; Romyasamit *et al.*, 2020; Tarrah *et al.*, 2019).

Pasteurella trehalosi identificada en muestras post-pasteurizadas ha sido aislada de pacientes con casos de endocarditis, septicemia e infecciones en heridas por Corbel (2012). Además, Pannaraj *et al.* (2017), logró identificar por métodos moleculares la presencia de especies de la familia *Pasteurellaceae* en leche cruda humana. Estos resultados sugieren que, pese a la pasteurización, ciertas bacterias soportan este tratamiento o son una contaminación post-pasteurización, lo que es un riesgo para la salud del lactante. Además, demuestra la necesidad de la prueba post-pasteurización en BVGC.

Los microorganismos identificados bioquímicamente fueron: *Lb. brevis* y *Lb. paracasei* aislados de las heces de los lactantes, *L. mesenteroides*, *Lacticaseibacillus rhamnosus*, *Lactiplantibacillus plantarum* provenientes de leche materna. Al ser sometidos a sales biliares y a pH ácido, todos presentaron resistencia a estas condiciones, similar a estudios previos de Fathia *et al.* (2014), quienes aislaron *Lb. brevis* de las heces de los lactantes, y fue resistente a jugos gástricos e inhibió el crecimiento de *E. coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Listeria monocytogenes* y *Bacillus cereus*. Por otra parte, Muñoz *et al.* (2013), comprobaron la resistencia de *Lb. paracasei* aislado de heces de infantes alimentados solo con leche materna, bajo estas mismas condiciones y el antagonismo frente a *Listeria monocytogenes*. La resistencia de *L. mesenteroides* a estas condiciones también fue determinada por Serrano *et al.* (2016), quienes también lo aislaron de leche materna proveniente de un banco. Los resultados de resistencia a pH ácido y sales biliares de *Lacticaseibacillus rhamnosus* concuerdan con la investigación de Rajoka *et al.* (2017), para quienes también esta cepa sobrevivió bajo las mismas condiciones, este microorganismo, inhibió *Haemophilus influenzae* y *Salmonella sp.*, *Streptococcus pneumoniae*, resultados similares a los reportados por el mismo autor, que encontró que este microorganismo inhibió a *Salmonella*. Para *Lactiplantibacillus plantarum*, los resultados de las pruebas probióticas, concuerdan con los resultados obtenidos por Emser *et al.* (2017) que comprobaron la resistencia a las sales biliares y a pH ácido. Este microorganismo inhibió *Salmonella sp.* y *E. coli*, en un estudio anterior realizado por Prabhurajeshwar & Chandrakanth (2017) evaluaron el antagonismo de varias especies de *Lactobacillus spp.* frente a diferentes patógenos, se verificó que estos lactobacilos eran capaces de inhibir a *E. coli*.

5. CONCLUSIONES

Se comprobó que la leche materna contiene una microbiota nativa que incluye microorganismos comensales y otros con propiedades probióticas, los cuales colonizan al infante principalmente en la lactancia.

En todos los tipos de las muestras de leche cruda, ácida y pre-pasteurizada no ácida, se obtuvo la frecuencia de microbiota alterante en un 50%, en cambio, en los tipos de la leche pasteurizada y post-pasteurizada sólo en el 20% de las muestras. Entre estos se encontraron principalmente, *S. aureus* con una frecuencia del 14%, *E. coli* con un 8% y las levaduras con un 28%. Con respecto a BAL se encontró, que los más frecuentes fueron *Lactiplantibacillus plantarum* con 26,5% y *Enterococcus faecium* con 17,6%.

En el banco del HGM, la pasteurización es vital para evitar la transmisión de los microorganismos potencialmente patógenos, pero ocasiona una disminución en la carga de probióticos, siendo primordial una adecuada manipulación de la leche en cada proceso del banco. Se observó que el parámetro de descarte de la acidez Dornic, no solo indica la presencia de patógenos, sino que también hay Bacterias Ácido Lácticas responsables de la acidificación de la leche. Por lo tanto, es necesario implementar pruebas más rápidas y que ayuden a identificar BAL, con el fin de evitar descartes de leches con probióticos que puede contribuir positivamente en el lactante.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo y colaboración de los directivos del HGM a las nutricionistas Nelly Castillejo y Neira, así como a todas las donantes del banco de leche. Especial agradecimiento a la supervisión general de la directora del laboratorio de microbiología de la UN Olga Inés Montoya Campuzano y al grupo de investigación en probióticos, además de la bacterióloga y auxiliares del laboratorio.

Contribución de los autores

Olga I. Montoya: Asesora, investigadora y revisora del artículo. Supervisor y guía en el desarrollo de procesos en el laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.

Nelly P. Castillejo: Asesora e investigadora en el procesamiento de las muestras del laboratorio del banco de leche del hospital General de Medellín.

Samantha Roldán, Paula A. Moreno, Andrea Velásquez-Restrepo y Alejandra Vargas-Buitrago: Estudiantes del pregrado de Ingeniería Biológica, realizaron ensayos de laboratorio, análisis de datos y edición del artículo de investigación.

Yara Correa: Líder investigativo en ensayos de laboratorio, procesamiento de datos y edición del artículo de investigación.

Referencias

- Al-Said, A. A., Salama, H. F. & El-Asuoty, M. S. (2022). Evaluation of the Potential Risks of Raw Milk Collected from Different Sources in El-Behaira Governorate. *Alexandria Journal for Veterinary Sciences*, 72(1).
- Anjum, J., Zaidi, A., Barrett, K. & Tariq, M. (2022). A potentially probiotic strain of *Enterococcus faecalis* from human milk that is avirulent, antibiotic sensitive, and nonbreaching of the gut barrier. *Archives of Microbiology*, 204(2), 1–18. <https://doi.org/10.1007/S00203-022-02754-8>

- Barreras, A., Tamayo, A. R., Villar, V. M. Del, & Valdez, J. Á. O. (2012). Evaluation of the antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* to the K9CATH peptide by the resazurin microtiter method and the reference broth microdilution method. *Scientific Journal of Veterinary Advances*, 1, 137–141.
- Bhisikar, S., Mondkar, J., Manerkar, S., Goel, S., DÕDsouza, D. & Baveja, S. (2018). Improving quality of banked milk: Utility of Dornic acid test. *The Indian Journal of Pediatrics*, 85(4), 272–275.
- Brandtzaeg, P. (2010). The mucosal immune system and its integration with the mammary glands. *The Journal of pediatrics*, 156(2), S8–S15.
- Casarotti, S. N., Carneiro, B. M., Svetoslav, Todorov, D., Nero, L. A., Rahal, P., Lúcia, A., Penna, B., Todorov, S. D., Nero, L. A., Rahal, P. & Penna, A. L. B. (2017). In vitro assessment of safety and probiotic potential characteristics of *Lactobacillus* strains isolated from water buffalo mozzarella cheese. *Annals of Microbiology*, 67(4), 289–301. <https://doi.org/10.1007/s13213-017-1258-2>
- Corbel, M. (2012). *Yersinia, pasteurella and francisella*. In D. Greenwood, R. Slack, M. Barer & W. Irving, *Medical Microbiology* (18), 350–358. Churchill Livingstone Elsevier.
- De la Academia, C. D. P. ABM Protocolo Clínico Nro. 8: Almacenamiento de Leche Humana. Información para el Uso Casero en Bebés a Término (Protocolo Original Marzo 2004; Revisión Nro. 1 Marzo 2010).
- De la Torre, M. J. L. Lactancia materna. Asociación Española de Pediatría. Trabajo de investigación. 10 Oct. 2014. Documento PDF disponible en: <https://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/lm.pdf>.
- Dewitte, C., Courdent, P., Charlet, C., Dumoulin, D., Courcol, R. & Pierrat, V. (2015). Contamination of human milk with aerobic flora: Evaluation of losses for a human milk bank. *Archives de Pediatrie*, 22(5), 461–467. <https://doi.org/10.1016/j.arcped.2015.02.011>
- Emser, K., Barbosa, J., Teixeira, P. & de Moraes, A. M. M. B. (2017). *Lactobacillus plantarum* survival during the osmotic dehydration and storage of probiotic cut apple. *Journal of Functional Foods*, 38, 519–528.
- FAO/WHO. (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. In joint FAO/WHO working group report
- Fathia, B., Annick, L., Robin, D., Thami, E., Abderrahmane, B. & Philippe, T. (2014). Characterization of *Lactobacillus* strains isolated from Algerian children faeces for their probiotic properties. *African Journal Of Microbiology Research*, 8(3), 297–303. doi: 10.5897/ajmr2013.6404
- Fernández, L., Langa, S., Martín, V., Maldonado, A., Jiménez, E., Martín, R. & Rodríguez, J. M. (2013). The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. *Pharmacological Research*, 69(1), 1–10.

- Guimaraes, V., Guerra de Almedia, J. A. & Reies, F. (2004). Normas técnicas para bancos de leche humana, Red Nacional de bancos de leche humana, Brasil. Centro de Referencia Nacional para Bancos de Leche humana – Instituto Fernandes Figueira / Fundación Oswaldo Cruz / Ministerio de Salud.
- Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (2016). Decreto 616 de 2006, Ministerio de Protección social. <https://www.ica.gov.co/etattachment15425e0f-81fb-4111b215-63e61e9e9130/2006d616.aspx>
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. (2009). Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Método horizontal para el recuento de microorganismos. NTC 4519. https://books.google.com.co/books?id=ndVmtAEACAAJ&dq=NTC+4519&hl=es-419&sa=X&re-dir_esc=y
- Jiménez, E., Fernández, L., Maldonado, A., Martín, R., Olivares, M., Xaus, J. & Rodríguez, J. M. (2008). Oral administration of Lactobacillus strains isolated from breast milk as an alternative for the treatment of infectious mastitis during lactation. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(15), 4650-4655. <https://doi.org/10.1128/AEM.02599-07>
- Léké, A., Grognet, S., Deforceville, M., Goudjil, S., Chazal, C., Kongolo, G. & Biendo, M. (2019). Macronutrient composition in human milk from mothers of preterm and term neonates is highly variable during the lactation period. *Clinical Nutrition Experimental*, 26, 59–72.
- Luz, C., Calpe, J., Manuel Quiles, J., Torrijos, R., Vento, M., Gormaz, M., Mañes, J. & Meca, G. (2021). Probiotic characterization of Lactobacillus strains isolated from breast milk and employment for the elaboration of a fermented milk product. *Journal of Functional Foods*, 84, 104599. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2021.104599>
- Moreno, M.A.S., Castro, L.S., Abrão, A.C.F.V. & Coca, K. P.(2018). Food safety and quality of distribution of raw human milk from a University Hospital. *Rev Nutr.* 31(6), 547–556. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-98652018000600004>
- Moreno, R., Salas, E. J., Pérez–Maldonado, C. I. & Jiménez, J. M. (2011). Evaluación del potencial probiótico de lactobacilos aislados de heces de lactantes y leche materna. *Education*, 27, 428–437.
- Murphy, K., Curley, D., O’callaghan, T. F., O’shea, C. A., Dempsey, E. M., O’toole, P. W., Ross, R. P., Ryan, C. A. & Stanton, C. (2017). The composition of human milk and infant faecal microbiota over the first three months of life: A pilot study. *Scientific Reports*, 7. <https://doi.org/10.1038/SREP40597>
- Muñoz-Quezada, S., Chenoll, E., María Vieites, J., Genovés, S., Maldonado, J., Bermúdez-Brito, M., Gomez-Llorente, C., Matencio, E., José Bernal, M., Romero, F., Suárez, A., Ramón, D. & Gil, A. (2013). Isolation, identification and characterisation of three novel probiotic strains (Lactobacillus paracasei CNCM I–4034, Bifidobacterium breve CNCM I–4035 and Lactobacillus rhamnosus CNCM I-4036) from the faeces of exclusively breast–fed infants. *British Journal of Nutrition*, 109(S2), S51–S62.

- Oliveira, C., Lopes-Júnior, L. C. & Sousa, C. P. de. (2022). Microbiological quality of pasteurized human milk from a Milk Bank of São Paulo. *Acta Paul Enferm*, 35, 1–10.
- Osorio, L. M. & Umbarila, A. S. (2015). Microbiota de la glándula mamaria. *Pediatría*, 48(1), 1–8.
- Pannaraj, P., Li, F., Cerini, C., Bender, J., Yang, S. & Rollie, A. et al. (2017). Association Between Breast Milk Bacterial Communities and Establishment and Development of the Infant Gut Microbiome. *JAMA Pediatrics*, 171(7), 647. doi: 10.1001/jamapediatrics.2017.0378
- Patel, R. M. & Underwood, M. A. (2018, February). Probiotics and necrotizing enterocolitis. In *Seminars in pediatric surgery*, 27(1), 39–46. WB Saunders.
- Peixoto, L. C., Nunes, M. G. S., Silva, M. J. da. & Lira, G. R. de. (2021). Acidez e perfil calórico do leite humano pasteurizado em um banco de leite de Pernambuco. *Revista Enfermagem Digital Cuidado e Promocão da Saúde*, 6, 1–6. <https://doi.org/10.5935/2446-5682.20210071>
- Prabhurajeshwar, C. & Chandrakanth, R. K. (2017). Probiotic potential of Lactobacilli with antagonistic activity against pathogenic strains: An in vitro validation for the production of inhibitory substances. *Biomedical journal*, 40(5), 270–283.
- Rajoka, M. S. R., Mehwish, H. M., Siddiq, M., Haobin, Z., Zhu, J., Yan, L. & Shi, J. (2017). Identification, characterization, and probiotic potential of Lactobacillus rhamnosus isolated from human milk. *LWT*, 84, 271–280.
- Romyasamit, C., Thatrimontrichai, A., Aroonkesorn, A., Chanket, W., Ingviya, N., Saengsuwan, P. & Singkhamanan, K. (2020). Enterococcus faecalis Isolated From Infant Feces Inhibits Toxigenic Clostridioides (Clostridium) difficile. *Frontiers in Pediatrics*, 8, 612. <https://doi.org/10.3389/FPED.2020.572633/BIBTEX>
- Serrano Niño, J., Solís Pacheco, J., Gutierrez Padilla, J., Cobián García, A., Cavazos Garduño, A., González Reynoso, O. & Aguilar Uscanga, B. (2016). Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Human Milk with Potential Probiotic Role. *Journal of Food and Nutrition Research*, 4(3), 170–177.
- Smith, A. C. & Hussey, M. A. (2019). Gram Stain Protocols. <https://asm.org/Protocols/Gram-Stain-Protocols>
- Talebi Bezmin Abadi, A. (2017). Probiotics as Anti-Helicobacter pylori Agent: State of the Art. *Anti-Infective Agents*, 15(1), 63–68. <https://doi.org/10.2174/2211352515666170216142116>
- Tankeshwar, A. (2013). Catalase test: Principle, Procedure, Results and Applications. Learn Microbiology Online. <https://microbeonline.com/catalase-test-principle-uses-procedure-results/>
- Tankeshwar, A. (2022). Oxidase Test: Principle, Procedure, Results. Microbe Online. <https://microbeonline.com/oxidase-test-principle-procedure-and-oxidase-positive-organisms/>

- Tarrah, A., da Silva Duarte, V., de Castilhos, J., Pakroo, S., Lemos Junior, W. J. F., Luchese, R. H., Fioravante Guerra, A., Rossi, R. C., Righetto Ziegler, D., Corich, V. & Giacomini, A. (2019). Probiotic potential and biofilm inhibitory activity of *Lactobacillus casei* group strains isolated from infant feces. *Journal of Functional Foods*, 54, 489-497. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2019.02.004>
- Vázquez-Román, S., García-Lara, N., Escuder-Vieco, D., Chaves-Sánchez, F., De la Cruz-Bertolo, J. & Pallas-Alonso, C. (2013). Determination of Dornic Acidity as a Method to Select Donor Milk in a Milk Bank. *Breastfeeding Medicine*, 8(1), 99–104. doi: 10.1089/bfm.2011.0091
- Vieira, A., Moreira, M., Rocha, A., Pimenta, H. & Lucena, S. (2004). Assessment of the energy content of human milk administered to very low birth weight infants. *Journal De Pediatria*, 80(6), 490–494. <http://dx.doi.org/10.2223/1263>
- Vlková, E., Grmanová, M., Rada, V., Homutová, I. & Dubná, S. (2009). Selection of probiotic bifidobacteria for lambs. *Czech Journal of Animal Science*, 54(12), 552–565. <https://doi.org/10.17221/151/2009-CJAS>
- Wiegand, I., Hilpert, K. & Hancock, R. E. W. (2008). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols*, 3(2), 163–175. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.521>
- Zhang, X., Mushajiang, S., Luo, B., Tian, F., Ni, Y. & Yan, W. (2020). The Composition and Concordance of *Lactobacillus* Populations of Infant Gut and the Corresponding Breast–Milk and Maternal Gut. *Frontiers in Microbiology*, 11, 2985. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2020.597911/BIBTEX>
- Zhao, J., Fan, H., Kwok, L. Y., Guo, F., Ji, R., Ya, M. & Chen, Y. (2020). Analyses of physicochemical properties, bacterial microbiota, and lactic acid bacteria of fresh camel milk collected in Inner Mongolia. *Journal of Dairy Science*, 103(1), 106–116. <https://doi.org/10.3168/JDS.2019-17023>

¿CONFINA EL ESPACIO LIBRE A LAS ONDAS Y LAS PARTÍCULAS?^a

CAN FREE SPACE CONFINE WAVES AND PARTICLES?

ROMÁN CASTAÑEDA^{b*}

Recibido 07-04-2022, aceptado 05-08-2022, versión final 22-08-2022

Artículo Investigación

RESUMEN: En física no-relativística, el espacio libre es considerado desde una perspectiva Newtoniana, es decir, como un escenario uniforme e isotrópico que no interviene en el comportamiento de los entes físicos. En este contexto, la interferencia y la difracción son descritas por la superposición de funciones de onda, lo cual aporta una explicación fenomenológica de esos comportamientos para las ondas, pero sólo provee una estrategia matemática de predicción para las partículas. Se muestra a continuación que la elaboración de una explicación fenomenológica de estos comportamientos, basada en un único principio, conduce a considerar el espacio libre como un ente físico que confina la energía de las ondas y las partículas en pozos Lorentzianos espacialmente estructurados por un potencial geométrico, el cual es activado por una condición de no-localidad preparada sobre la máscara de interferencia. Si esta condición es suficientemente fuerte, los pozos de confinamiento estarán espacialmente entrelazados. También se muestra que difracción e interferencia son términos que denotan modulaciones de confinamiento en diferentes regiones de la banda de frecuencias espaciales. Este desarrollo es puramente teórico, respaldado por modelamiento numérico y reproduce de manera precisa los resultados de experimentos reportados por otros autores.

PALABRAS CLAVE: Interferencia; difracción; confinamiento; potencial geométrico; entrelazamiento espacial.

ABSTRACT: In non-relativistic physics, free space is considered from a Newtonian perspective, that is, as a uniform and isotropic scenario that cannot affect the behavior of physical entities propagating in it. In this context, interference and diffraction are described by the superposition of wave functions that provides a phenomenological explanation in case of waves, but only gives a mathematical prediction strategy for particles. In this paper, it is shown that the development of a phenomenological explanation of both behaviors, based on a unique and the same principle, leads to consider free space as a physical entity that confines the wave energy and the particles in Lorentzian wells, spatially structured by a geometric potential which is activated by a prepared non-locality condition at the interference mask. If this condition is strong enough, the wells become spatially entangled. It is also shown that diffraction and interference are terms that denote confinement modulations in different regions of the spatial frequency band. This development is purely theoretical, supported by numerical modeling and accurately reproduces the results of well-known experiments.

KEYWORDS: interference; diffraction; confinement; geometric potential; spatial entanglement.

^aCastañeda, R. (2023). ¿Confinar el espacio libre a las ondas y partículas?. *Rev. Fac. Cienc.*, 12 (1), 24–46. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.fac.cienc.v12n1.102032>

^bProfesor Titular, Escuela de Física, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín

* Autor para correspondencia: rcastane@unal.edu.co

1. CONCEPTOS FUNDAMENTALES

Es ampliamente aceptado que la propagación en espacio libre de campos ópticos y electromagnéticos está representada matemáticamente por la Ecuación Clásica de Ondas, mientras que la de partículas materiales no-relativísticas lo está por de la Ecuación de Schrödinger con potencial aplicado nulo (Born & Wolf, 1993; Feynman *et al.*, 1965). La componente espacial de ambas ecuaciones es la Ecuación de Helmholtz (Born & Wolf, 1993; Feynman *et al.*, 1965)

$$\nabla^2 \psi(\mathbf{r}) = -k^2 \psi(\mathbf{r}), \quad (1)$$

cuyas soluciones son funciones propias del operador laplaciano con valor propio $-k^2$, donde $k = \omega/c$ para ondas de frecuencia ω , siendo c la velocidad de propagación de la luz en el vacío, y $k = p/\hbar$ para partículas de momentum p , siendo $\hbar = h/2\pi$ y h la constante de Planck. La forma matemática exacta (no-paraxial) de estas funciones propias en un plano de coordenadas \mathbf{r} (en adelante denominado el plano S) puede expresarse en términos de la expansión:

$$\psi(\mathbf{r}) = \int_E d^2\xi \psi(\xi) t(\xi) \Theta(\xi, \mathbf{r}, \mathbf{z}, k) \quad (2)$$

sobre la base ortogonal de funciones propias del operador Laplaciano con valor propio $-k^2$ (Castañeda *et al.*, 2020),

$$\Theta(\xi, \mathbf{r}, \mathbf{z}, k) = -i \left(\frac{k}{4\pi} \right) \frac{z + |\mathbf{z} + \mathbf{r} - \xi|}{|\mathbf{z} + \mathbf{r} - \xi|^2} \exp(ik|\mathbf{z} + \mathbf{r} - \xi|), \quad (3)$$

obtenidas al resolver la ecuación (1) con base en el Teorema de Green (Arfken, 1970), bajo las condiciones de frontera de Kirchhoff (Born & Wolf, 1993). El coeficiente de la expansión en la ecuación (2) determina las condiciones de frontera para la propagación desde el plano E , de coordenadas ξ , al plano S separado una distancia z . Tales condiciones de frontera son especificadas por la función propia $\psi(\xi)$ en el plano E y la función de transmisión $t(\xi) = |t(\xi)| \exp(i\phi(\xi))$ de una máscara ubicada en dicho plano. La ecuación (3) indica que las funciones de Green para la propagación, $\Theta(\xi, \mathbf{r}, \mathbf{z}, k)$, son funciones escalares tridimensionales, geométricas y determinísticas, definidas en el volumen delimitado por los planos E y S , que constituyen un kernel exacto, no-paraxial, para la expansión (Castañeda *et al.*, 2020). Tales funciones le confieren el significado geométrico $k = 2\pi/\lambda$ al valor propio del Laplaciano, con λ la longitud en la que su coeficiente armónico evoluciona en 2π . De esta manera, una onda se propagará siguiendo la geometría de las funciones de Green sólo si su frecuencia ω satisface la condición $\omega\lambda = 2\pi c$, mientras que una partícula material lo hará sólo si su momentum p cumple la condición $p\lambda = h$, conocida como Fórmula de De Broglie (Feynman *et al.*, 1965). Desde esta perspectiva, la longitud λ constituye una métrica del espacio introducida por las funciones de Green, que acopla la propagación de las ondas y las partículas a la condición geométrica del espacio que dichas funciones establecen (Castañeda, 2016).

Esta descripción convencional de la propagación en espacio libre (Born & Wolf, 1993; Feynman *et al.*, 1965) condujo, sin embargo, a una explicación inesperada de la interferencia (Castañeda, 2016):

La causa necesaria y suficiente para la interferencia tanto de la luz como de la materia es la interacción entre cada emisor puntual real y los emisores puntuales virtuales, distribuidos en el plano de entrada de la etapa de realización del experimento en el interferómetro.

En este artículo se discutirá en detalle el significado físico de dicha interacción. Con tal fin, se mostrará que el espacio libre no es un ente Newtoniano, es decir, un escenario pasivo, uniforme e isotrópico para la propagación, donde la interferencia se debe exclusivamente a propiedades de las funciones de onda, ya sean estas ópticas, electromagnéticas o cuánticas. Por el contrario, el espacio libre interviene significativamente en la interferencia, configurando pozos Lorentzianos que confinan la energía de las perturbaciones ondulatorias y la densidad de las partículas asociadas a los emisores puntuales reales. Por su parte, los emisores puntuales virtuales aportan un potencial geométrico que modula espacialmente al pozo Lorentziano, determinando en su volumen una distribución espacialmente estructurada de regiones de confinamiento. Así, cuando la energía de las ondas o la densidad de partículas llenan dichas regiones de confinamiento, la sección transversal del pozo Lorentziano espacialmente estructurado en el plano de detección conformará lo que denominamos patrón de interferencia.

En este análisis se emplearán directamente los resultados matemáticos de Castañeda (2016) sin incluir explícitamente las deducciones que allí se realizaron. En la sección 2 se mostrará cómo se establece el confinamiento espacialmente estructurado en los pozos Lorentzianos, lo cual, en la sección 3, permitirá especificar la interacción entre emisores puntuales reales y virtuales en términos del confinamiento de las partículas y de la energía de las ondas, así como dilucidar una antigua discusión sobre el significado de los términos interferencia y difracción (Feynman *et al.*, 1965) en la sección 4. Las conclusiones serán presentadas en la sección .

2. CONFINAMIENTO ESPACIALMENTE ESTRUCTURADO

Los detectores convencionales para medir distribuciones de energía luminosa o densidades de partículas que llegan a un plano dado se denominan "de módulo cuadrado" porque, en lugar de dar cuenta de los valores complejos de la función propia $\psi(\mathbf{r})$, solo pueden registrar los valores reales y positivos $|\psi(\mathbf{r})|^2 = \psi(\mathbf{r})\psi^*(\mathbf{r})$ que describen la distribución de irradiancia de las ondas o la densidad de probabilidad cuántica de las partículas que arriban al detector. Así, de acuerdo con la ecuación (2), el patrón registrado por un detector de módulo cuadrado dispuesto en el plano S de un interferómetro, podrá expresarse como

$$|\psi(\mathbf{r}_A)|^2 = \int_E \int_E d^2\xi_A d^2\xi_D \omega(\xi_+, \xi_-) \tau(\xi_+, \xi_-) \Phi(\xi_+, \xi_-, \mathbf{r}_A, \mathbf{z}, k), \quad (4)$$

donde $\omega(\xi_+, \xi_-) = \psi(\xi_+) \psi^*(\xi_-)$, $\tau(\xi_+, \xi_-) = t(\xi_+) t^*(\xi_-)$ y

$$\Phi(\xi_+, \xi_-, \mathbf{r}_A, \mathbf{z}, k) = \Theta(\xi_+, \mathbf{r}_A, \mathbf{z}, k) \Theta^*(\xi_-, \mathbf{r}_A, \mathbf{z}, k). \quad (5)$$

Para caracterizar los barridos independientes de las integrales multiplicadas en la ecuación (4) se introdujeron las coordenadas reducidas $\xi_{\pm} = \xi_A \pm \xi_D/2$, que identifican unívocamente parejas de puntos en el plano

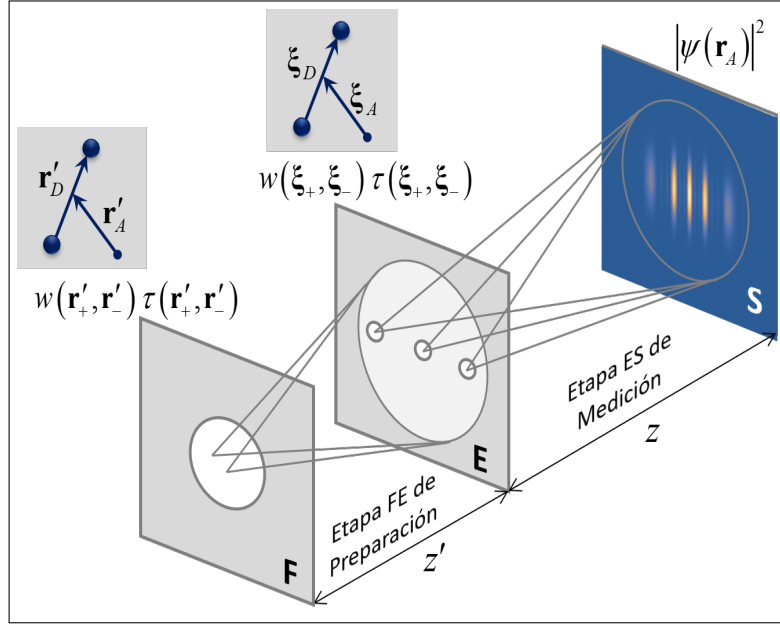


Figura 1: Diagrama conceptual de un montaje para interferencia o difracción en la configuración P & M (Preparación y Medición).

La fuente de ondas o de partículas se ubica en el plano F. La máscara o dispositivo para interferencia o difracción se ubica en el plano E y el detector se ubica en el plano S. Los recuadros cercanos a los planos F y E especifican las coordenadas reducidas para pares de puntos en dichos planos. Se indican las funciones de interés en cada plano, las cuales se explican en el texto. Fuente:

Elaboración propia.

E, separadas por el vector ξ_D y cuyo punto medio está ubicado en la posición ξ_A , Figura 1.

De esta manera, las funciones $\omega(\xi_+, \xi_-)$, $\tau(\xi_+, \xi_-)$ y $\Phi(\xi_+, \xi_-, \mathbf{r}_A, \mathbf{z}, k)$ están definidas para parejas de puntos en las posiciones ξ_{\pm} del plano E y, en ese sentido involucran *no-localidad*. En efecto, $\omega(\xi_+, \xi_-)$ y $\tau(\xi_+, \xi_-)$ se han llamado respectivamente la *función de no-localidad preparada* en el plano E y la *función de transmisión no-local* correspondiente a ese plano. De la ecuación (3) se sigue que el kernel no-local de la ecuación (4) toma la forma

$$\Phi(\xi_+, \xi_-, \mathbf{r}_A, \mathbf{z}, k) = \left(\frac{k}{4\pi} \right)^2 \left(\frac{z + |\mathbf{z} + \mathbf{r}_A - \xi_+|}{|\mathbf{z} + \mathbf{r}_A - \xi_+|^2} \right) \left(\frac{z + |\mathbf{z} + \mathbf{r}_A - \xi_-|}{|\mathbf{z} + \mathbf{r}_A - \xi_-|^2} \right) \times \exp(ik|\mathbf{z} + \mathbf{r}_A - \xi_+| - ik|\mathbf{z} + \mathbf{r}_A - \xi_-|). \quad (6)$$

La preparación de $\omega(\xi_+, \xi_-)$ se justifica en el hecho de que sus valores se pueden especificar y controlar experimentalmente adicionando una etapa previa al interferómetro, usualmente denominada etapa de preparación, ubicando apropiadamente un tercer plano F, anterior al plano E a una distancia z' , Figura 1. La etapa consecutiva, delimitada por los planos E y S, se denomina etapa de medición y se dice que el interferómetro tiene una configuración P&M (Preparación - Medición), Figura 1.

Se supone entonces que las ondas o las partículas son emitidas por una fuente efectiva plana, ubicada en el

plano F , y su propagación hasta el plano E se describe mediante ecuaciones similares a las ecuaciones (2) y (3), esto es

$$\Psi(\xi) = \int_F d^2 r' \Psi(\mathbf{r}') t(\mathbf{r}') \Theta(\mathbf{r}', \xi, \mathbf{z}', k), \quad (7)$$

donde $\Psi(\mathbf{r}')$ es la función propia del operador Laplaciano de la ecuación (1) en el plano F y $t(\mathbf{r}') = |t(\mathbf{r}')| \exp(i\phi(\mathbf{r}'))$ es la función de transmisión compleja de dicho plano, mientras que

$$\Theta(\mathbf{r}', \xi, \mathbf{z}', k) = -i \left(\frac{k}{4\pi} \right) \frac{z' + |\mathbf{z}' + \xi - \mathbf{r}'|}{|\mathbf{z}' + \xi - \mathbf{r}'|} \exp(ik|\mathbf{z}' + \xi - \mathbf{r}'|) \quad (8)$$

es la función de Green definida en el volumen de la etapa preparación del interferómetro. Por lo tanto, de la ecuación (7) se sigue que la función de no-localidad preparada en el plano E puede expresarse como

$$\omega(\xi_+, \xi_-) = \int_F \int_F d^2 r'_A d^2 r'_D \omega(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-) \tau(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-) \Phi(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-, \xi_+, \xi_-, \mathbf{z}', k), \quad (9)$$

con $\omega(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-) = \Psi(\mathbf{r}'_+) \Psi^*(\mathbf{r}'_-)$ la función de no-localidad que involucra las propiedades físicas y estadísticas de la fuente efectiva en pares de puntos del plano F , especificados por las coordenadas reducidas $\mathbf{r}'_{\pm} = \mathbf{r}'_A \pm \mathbf{r}'_D/2$, donde \mathbf{r}'_A y \mathbf{r}'_D son, respectivamente, la posición del punto medio entre la pareja considerada y su vector de separación, Figura 1. Además, $\tau(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-) = t(\mathbf{r}'_+) t^*(\mathbf{r}'_-)$ es la función de transmisión no-local para la pareja de puntos \mathbf{r}_{\pm} , y el kernel no-local $\Phi(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-, \xi_+, \xi_-, \mathbf{z}', k) = \Theta(\mathbf{r}'_+, \xi_+, \mathbf{z}', k) \Theta^*(\mathbf{r}'_-, \xi_-, \mathbf{z}', k)$ toma la forma

$$\begin{aligned} \Phi(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-, \xi_+, \xi_-, \mathbf{z}', k) &= \left(\frac{k}{4\pi} \right)^2 \left(\frac{z' + |\mathbf{z}' + \xi_+ - \mathbf{r}'_+|}{|\mathbf{z}' + \xi_+ - \mathbf{r}'_+|^2} \right) \left(\frac{z' + |\mathbf{z}' + \xi_- - \mathbf{r}'_-|}{|\mathbf{z}' + \xi_- - \mathbf{r}'_-|^2} \right) \\ &\times \exp(ik|\mathbf{z}' + \xi_+ - \mathbf{r}'_+| - ik|\mathbf{z}' + \xi_- - \mathbf{r}'_-|). \end{aligned} \quad (10)$$

Es importante notar que, para fuentes de ondas o partículas carentes de propiedades no locales, es decir, fuentes incoherentes, se cumple que $\omega(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-) = 0$ para todo $\mathbf{r}'_D \neq 0$ y la ecuación (9) se reduce a

$$\omega(\xi_+, \xi_-) = \int_F d^2 r'_A |\Psi(\mathbf{r}'_A)|^2 |t(\mathbf{r}'_A)|^2 \Phi(\mathbf{r}'_A, \xi_+, \xi_-, \mathbf{z}', k), \quad (11)$$

donde el coeficiente $|\Psi(\mathbf{r}'_A)|^2 |t(\mathbf{r}'_A)|^2$ describe la emisión de perturbaciones ondulatorias o partículas singulares en cada punto individual \mathbf{r}'_A de la fuente efectiva. En efecto, $|\Psi(\mathbf{r}'_A)|^2$ describe la distribución de irradiancia (Born & Wolf, 1993) en cada punto de la fuente efectiva, como también la densidad de probabilidad cuántica (Feynman *et al.*, 1965) de las partículas localmente emitidas por dicha fuente, mientras que $0 \leq |t(\mathbf{r}'_A)|^2 \leq 1$ es la transmitancia local de la fuente efectiva. Es decir, la no-localidad de la fuente efectiva no es una condición necesaria para preparar no-localidad en el plano E . De hecho, la ecuación (11) indica

que la geometría del kernel no-local $\Phi(\mathbf{r}'_A, \xi_+, \xi_-, \mathbf{z}', k)$ es la responsable de la preparación de la función de no-localidad en el plano E . Este profundo significado geométrico de la preparación de la no-localidad no se altera si consideramos fuentes parcial o completamente coherentes, para las cuales $\omega(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-)$ toma valores no-nulos para $\mathbf{r}'_D \neq 0$, pues dichos valores sólo activan modos del kernel no-local correspondientes a las parejas de puntos \mathbf{r}'_{\pm} involucrados.

El confinamiento espacialmente estructurado describe la interferencia que ocurre en la etapa de medición del interferómetro. Para evidenciar sus propiedades es útil separar las contribuciones locales, aportadas por puntos individuales en el plano E , de las no-locales, aportadas por las parejas de puntos en dicho plano. Con tal fin, se introduce la función adimensional $1 \equiv \delta(\xi_D) + [1 - \delta(\xi_D)]$ en el integrando de la ecuación (4), con $\delta(\xi_D)$ la función delta de Dirac. Esto conduce a

$$|\Psi(\mathbf{r}_A)|^2 = \int_E d^2\xi_A |\Psi(\xi_A)|^2 |t(\xi_A)|^2 \Phi(\xi_A, \mathbf{r}_A, \mathbf{z}, k) + 2 \int_E \int_{\xi_D \neq 0}^E \{d^2\xi_A d^2\xi_D |\omega(\xi_+, \xi_-)| |\tau(\xi_+, \xi_-)| \operatorname{Re}[\Phi(\xi_+, \xi_-, \mathbf{r}_A, \mathbf{z}, k) \exp[i\alpha(\xi_+, \xi_-) + i\beta(\xi_+, \xi_-)]]\} \quad (12)$$

De la ecuación (6) se sigue que el kernel del primer término de la ecuación (12) es la función real y positiva

$$\Phi(\xi_A, \mathbf{r}_A, \mathbf{z}, k) = \left(\frac{k}{4\pi}\right)^2 \left(\frac{z + |\mathbf{z} + \mathbf{r}_A - \xi_A|}{|\mathbf{z} + \mathbf{r}_A - \xi_A|^2}\right)^2. \quad (13)$$

Las fases $\alpha(\xi_+, \xi_-)$ y $\beta(\xi_+, \xi_-) = \phi(\xi_+) - \phi(\xi_-)$ en el integrando del segundo término de la ecuación (12) son aportados respectivamente por la función de no-localidad y por la función de transmisión no-local en el plano E , las cuales a su vez cumplen las simetrías $\omega(\xi_+, \xi_-) = \omega^*(\xi_-, \xi_+)$ y $\tau(\xi_+, \xi_-) = \tau^*(\xi_-, \xi_+)$, simetría que también se presenta en el kernel $\Phi(\xi_+, \xi_-, \mathbf{r}_A, \mathbf{z}, k) = \Phi^*(\xi_-, \xi_+, \mathbf{r}_A, \mathbf{z}, k)$. De ahí que, cuando se asocian los valores del integrando para los dos grados de libertad en orientación del vector de separación ξ_D , se obtiene la parte real, denotada como Re en la ecuación (12).

Los dos términos de la ecuación (12) son reales, pero el primero sólo toma valores positivos mientras que el segundo toma valores positivos y negativos. No obstante, su suma sólo puede tomar valores positivos. Además, la ley de conservación $\int_S d^2r_A |\Psi(\mathbf{r}_A)|^2 = \int_E d^2\xi_A |\Psi(\xi_A)|^2 |t(\xi_A)|^2$ conduce de manera directa a $\int_S d^2r_A \Phi(\xi_A, \mathbf{r}_A, \mathbf{z}, k) = 1$ y $\int_E d^2r_A \Phi(\xi_+, \xi_-, \mathbf{r}_A, \mathbf{z}, k) = 0$.

Por último, si $\omega(\xi_+, \xi_-) = 0$ para todo $\xi_D \neq 0$, entonces la ecuación (12) se reduce a

$$|\Psi(\mathbf{r}_A)|^2 = \int_E d^2\xi_A |\Psi(\xi_A)|^2 |t(\xi_A)|^2 \Phi(\xi_A, \mathbf{r}_A, \mathbf{z}, k). \quad (14)$$

Estos resultados indican que el primer término de la ecuación (12) es directamente registrable por el detector de módulo cuadrado ubicado en el plano S , pero el segundo término no lo es, de manera que el efecto físico de este término sólo se evidencia cuando se adiciona al primero. Debe notarse además que la ecuación

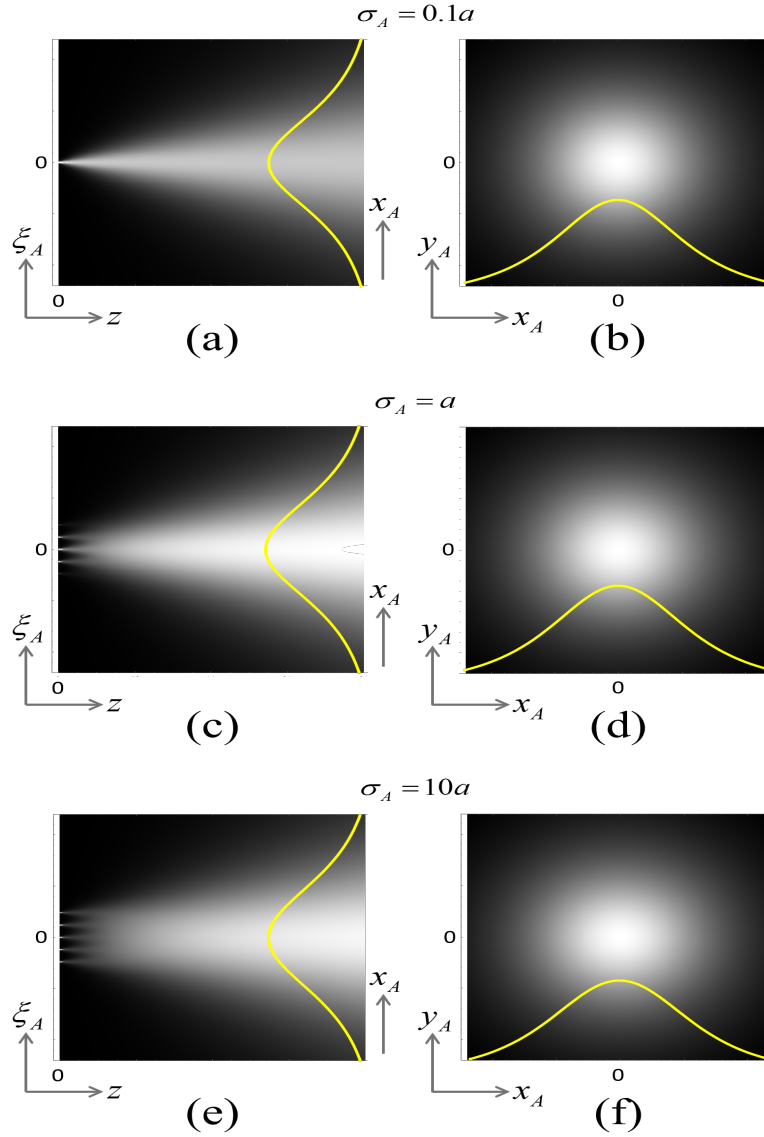


Figura 2: Secciones axial (columna de la izquierda) y transversal a la distancia z correspondiente al borde derecho de la sección axial (columna de la derecha) para un arreglo de cinco pozos Lorentzianos, formalizados en la ecuación (14). Los vértices de los pozos están dispuestos en un arreglo unidimensional regular de espaciamiento a , con $|\Psi(\xi_A)|^2 |t(\xi_A)|^2 = \exp(-|\xi_A|^2 / 2\sigma_A^2)$. Este coeficiente opera como un filtro de pozos, de suerte que en (a), (b) la gaussiana es tan estrecha que elimina todos los pozos excepto el central; en (c), (d) la gaussiana se ensancha lo suficiente para incluir tres pozos y, prácticamente eliminar los dos de los extremos; y en (e), (f) la gaussiana es tan amplia que incluye todos los pozos con valores significativos en sus vértices. Los grafos muestran que los pozos solapados no presentan modulaciones espaciales de interferencia y, a una distancia apropiada, la sección transversal del solapamiento tiene el perfil Lorentziano de un pozo único. Fuente: Elaboración propia.

(13) indica que el kernel de la ecuación (14) no es una función armónica y, por lo tanto, no describe la propagación de ondas o partículas entre los planos E y S en términos de frentes onda.

Las gráficas de la Figura 2 indican que el kernel de la ecuación (14), definido en la ecuación 13, describe conos de sección transversal Lorentziana, con vértices en cada punto específico ξ_A del plano E y bases que encierran todos los puntos \mathbf{r}_A del área de detección en el plano S . El máximo principal del perfil Lorentziano indica que, tanto la distribución de irradiancia de las ondas como la densidad de las partículas materiales que emergen del vértice del cono, descritas por el coeficiente $|\Psi(\xi_A)|^2 |t(\xi_A)|^2$, se concentran preferencialmente alrededor del eje del cono a lo largo de su propagación hacia el plano S . Esta particularidad geométrica revela que el kernel $\Phi(\xi_A, \mathbf{r}_A, \mathbf{z}, k)$ describe un pozo Lorentziano que confina transversalmente la energía de las ondas y las partículas que emergen de su vértice.

Debe subrayarse que este pozo Lorentziano es la respuesta natural del espacio frente a la propagación de ondas y partículas, puesto que está determinado por las funciones de Green definidas en el volumen delimitado por los planos E y S . Debido al confinamiento transversal, los atributos geométricos del espacio libre en interferencia no son Newtonianos. Así mismo, la Figura 2 ilustra que el solapamiento de pozos Lorentzianos no produce las modulaciones espaciales que caracterizan a los patrones de interferencia. Esto confirma, por un lado, la tesis expuesta en Castañeda (2016) de que la superposición de ondas no sería el principio fundamental de la interferencia y, por otro, indica que las ondas y partículas que emergen del vértice de un pozo permanecen confinados en él a pesar de su solapamiento con otros pozos. Es decir, la noción de interacción no es aplicable entre pozos Lorentzianos.

El segundo término de la ecuación (12) es entonces indispensable para producir las modulaciones espaciales propias de la interferencia. Este término requiere que la no-localidad preparada en el plano E sea no-nula en regiones extendidas de dicho plano, que incluyan parejas de puntos determinadas por la función de transmisión no-local, de modo que el coeficiente $|\omega(\xi_+, \xi_-)| |\tau(\xi_+, \xi_-)|$ sea no-nulo. Sin embargo, como lo demuestran los experimentos de interferencia con partículas singulares (De Martini *et al.*, 1994; Frabboni *et al.*, 2012; Juffmann *et al.*, 2012; Bach *et al.*, 2013; Matteucci *et al.*, 2013; Castañeda *et al.*, 2016a; Castañeda *et al.*, 2016b), este requerimiento de no-localidad no implica que simultáneamente haya partículas (o incluso, perturbaciones ondulatorias) en ambos puntos de una pareja considerada.

Adicionalmente, en estos experimentos, las realizaciones individuales son disjuntas. Una realización individual comienza con la emisión de la partícula singular en la fuente y termina con su registro en el detector, de modo que en cada realización individual sólo hay una única partícula moviéndose en el interferómetro. Cuando se afirma que estas realizaciones individuales son disjuntas, se indica que cada partícula singular no está conectada en modo alguno con la partícula precedente ni afecta el comportamiento de las partículas subsecuentes. Por lo tanto, la no-localidad en el plano E no podría ser atribuida a propiedades físicas o estadísticas de las ondas o las partículas, sino que debería ser considerada como un atributo puramente espacial, que modula la geometría de cada pozo Lorentziano, convirtiéndolo en un pozo espacialmente estructurado.

Dicha modulación es aportada por los modos del kernel no-local $\Phi(\xi_+, \xi_-, \mathbf{r}_A, \mathbf{z}, k)$, activados por la no-localidad en el plano E , los cuales son reorientados espacialmente en el volumen delimitado por los planos E y S por las fases $\alpha(\xi_+, \xi_-)$ y $\beta(\xi_+, \xi_-)$. La Figura 3 ilustra la geometría moduladora, con fases nulas, del kernel no-local para diferentes conjuntos de puntos en el plano E .

En consecuencia, las secciones transversales de los pozos espacialmente modulados tienen conjuntos de zonas con máximos principales, donde se concentran la distribución de irradiancia o la densidad de partículas registradas por el detector, caracterizando así a los patrones de interferencia. En otras palabras, el segundo término de la ecuación (12) actúa como un potencial de confinamiento, que denominamos potencial geométrico (Castañeda, 2016; Castañeda *et al.*, 2020), cuyos modos tienen también geometría cónica con envolvente transversal Lorentziana y vértice en el punto medio de la pareja de puntos considerada.

Así como se ha caracterizado el ingreso de energía ondulatoria o de partículas al pozo Lorentziano en términos de un emisor puntual de ondas o partículas ubicado en su vértice, llamado emisor puntual real, también se han caracterizado los modos del potencial geométrico en términos de emisores puntuales en sus vértices respectivos, denominados emisores puntuales virtuales. El término virtual se debe a que la modulación espacial no puede afectar el cumplimiento de la ley de conservación anteriormente anotada, de suerte que la integral transversal de los modos es siempre nula (Castañeda, 2016). Por lo tanto, la estructuración espacial de cada pozo Lorentziano por modos específicos del potencial geométrico constituye la realización física de la descripción de la interferencia como la *interacción entre cada emisor puntual real y los emisores puntuales virtuales distribuidos en el plano E*.

Es importante destacar que cada pozo Lorentziano, en virtud de la posición ξ_A de su vértice, es espacialmente estructurado por un conjunto específico de modos del potencial geométrico. Esto es formalizado matemáticamente por el término de la ecuación (12) para cada valor de la coordenada ξ_A :

$$W(\xi_A, \mathbf{r}_A) = |\Psi(\xi_A)|^2 |t(\xi_A)|^2 \Phi(\xi_A, \mathbf{r}_A, \mathbf{z}, k) + \int_{\xi_D \neq 0} d^2 \xi_D |\omega(\xi_+, \xi_-)| |\tau(\xi_+, \xi_-)| \text{Re} [\Phi(\xi_+, \xi_-, \mathbf{r}_A, \mathbf{z}, k) \exp[i\alpha(\xi_+, \xi_-) + i\beta(\xi_+, \xi_-)]] . \quad (15)$$

Así, el patrón de interferencia registrado por el detector resultará del solapamiento de todos los pozos individuales espacialmente estructurados, como lo describe la ecuación (12), es decir, $|\Psi(\mathbf{r}_A)|^2 = \int_E d^2 \xi_A W(\xi_A, \mathbf{r}_A)$. La Figura 4 ilustra los tres pozos individuales espacialmente estructurados por modos del potencial geométrico de la Figura 3 (c), (d) así como el pozo resultante de su solapamiento.

La modulación específica de cada pozo individual espacialmente estructurado se representa de manera precisa y eficiente en el *espectro de emisores puntuales* (Castañeda & Muñoz, 2016). Esta herramienta es un grafo de puntos en un plano de coordenadas (ξ_A, ξ_D) , de manera que los puntos para $\xi_D = 0$ representan las posiciones de los vértices de los pozos Lorentzianos; mientras que los puntos para $\xi_D \neq 0$ representan las posiciones de los vértices de los modos del potencial geométrico que modulan a las parejas de pozos

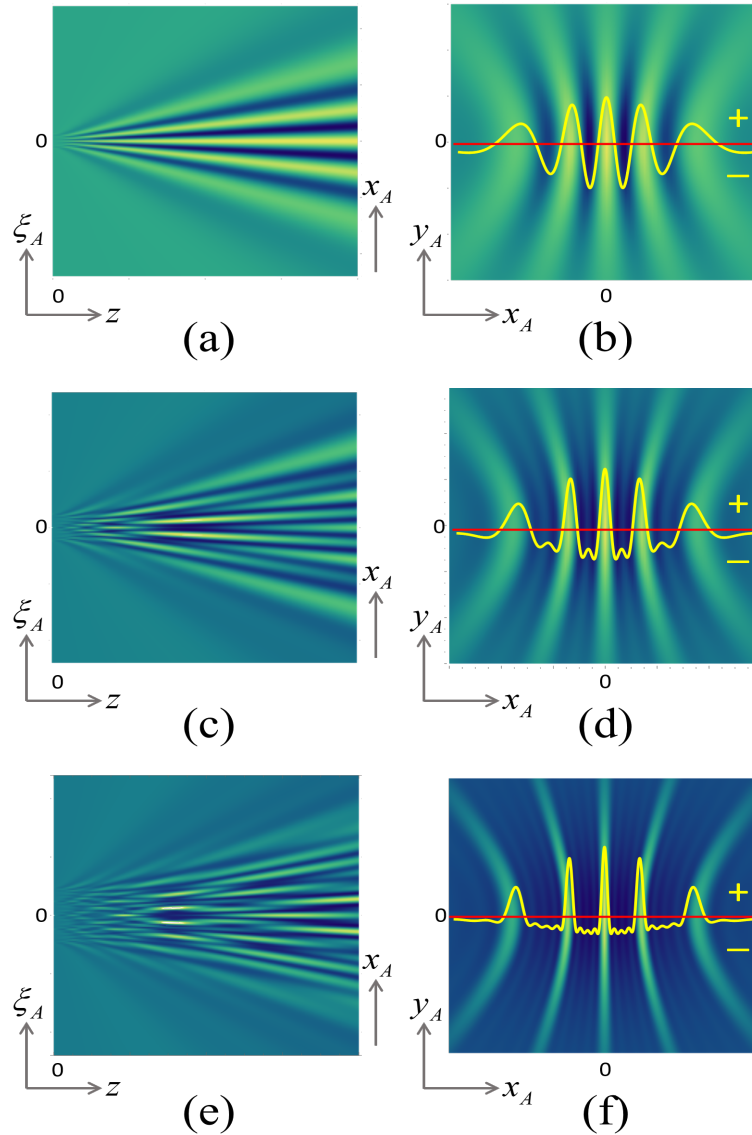


Figura 3: Secciones axial cerca al plano E (columna izquierda) y transversal en campo lejano (columna derecha) del potencial geométrico para (a), (b) dos puntos, (c), (d) tres puntos y (e), (f) cinco puntos bajo valores significativos de no-localidad preparada en el plano E y fases nulas. Fuente: Elaboración propia.

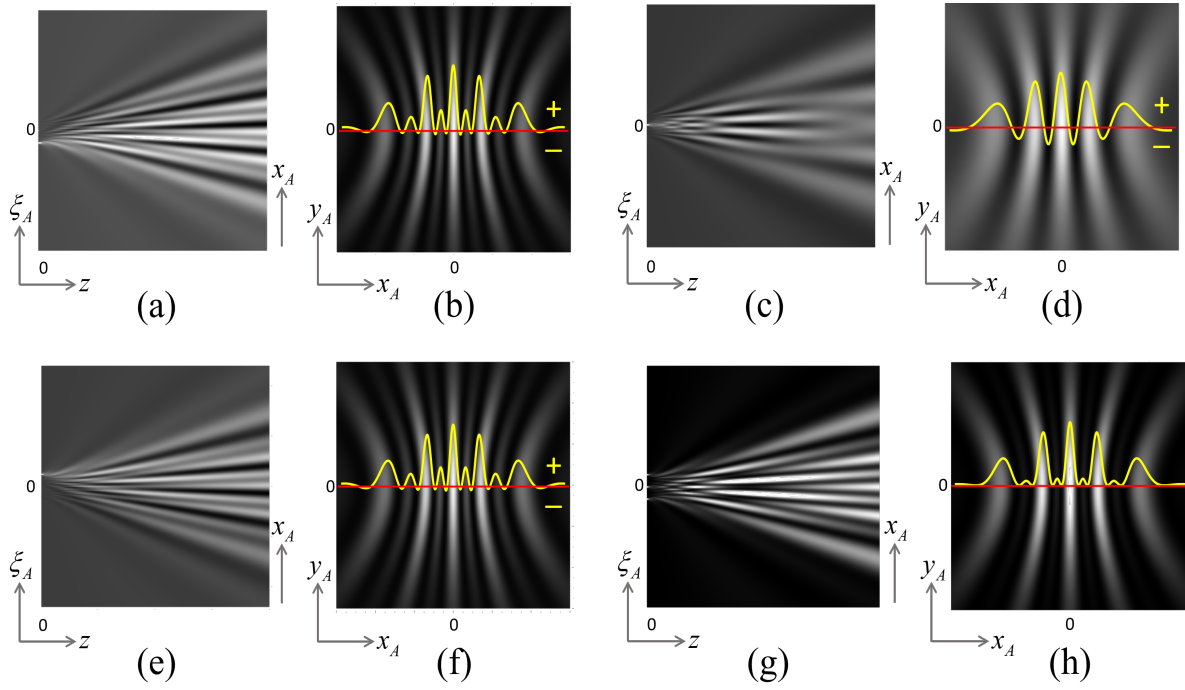


Figura 4: Secciones axial cerca al plano E (a, c, e) y transversal en campo lejano (b, d, f) de los pozos individuales espacialmente estructurados en un experimento con una máscara de tres aberturas puntuales, colineales e igualmente espaciadas, bajo valores significativos de no-localidad preparada en el plano E, y su solapamiento en (g), (h). Las zonas prohibidas son evidenciadas en los perfiles de las secciones transversales de los conos individuales. El solapamiento las reduce a puntos de valor nulo. Fuente: Elaboración propia.

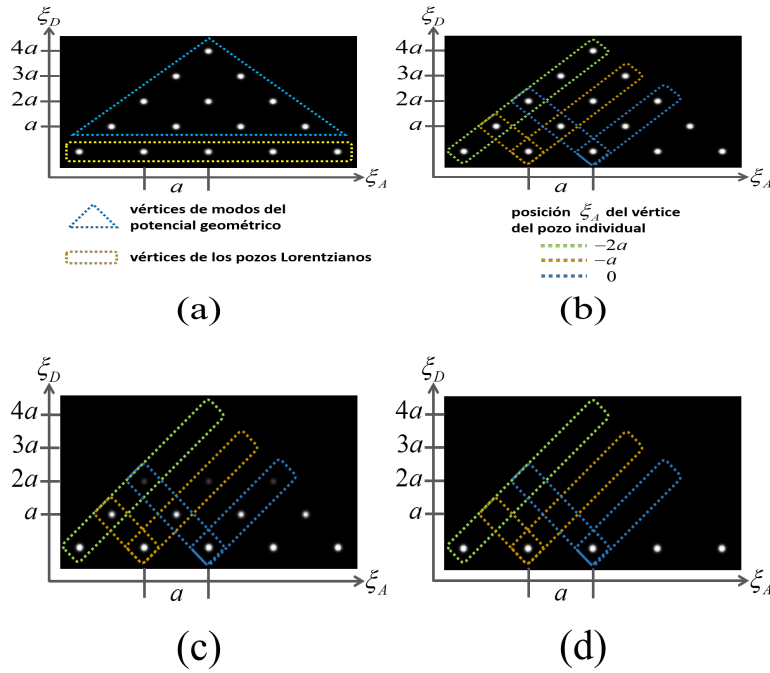


Figura 5: Espectro de emisores puntuales para interferencia con una máscara de cinco aberturas puntuales colineales y regularmente espaciadas, con espaciamiento a . En (a) se indican los puntos que corresponden a los vértices de los pozos Lorentzianos asociados a cada abertura, y los que corresponden a los vértices de los modos del potencial geométrico. Los recuadros punteados en (b)-(d) encierran los vértices del pozo Lorentziano y de los modos del potencial geométrico que lo modulan (por claridad en el diagrama, no se señalan a los dos pozos de la derecha). (b) Bajo valores significativos de no-localidad preparada en el plano E todos los modos del potencial geométrico intervienen y cada pozo individual espacialmente estructurado es modulado por cuatro modos específicos. Un rasgo de no-localidad es evidente: cada modo del potencial geométrico modula dos pozos Lorentzianos con vértices distantes. (c) Al restringir la no-localidad preparada en el plano E, los modos para separaciones mayores ($3a$ y $4a$) son eliminados por filtración de la función de no-localidad, mientras que el peso de los modos para la separación $2a$ se reduce, como lo representa la coloración gris y el menor tamaño de los puntos. La modulación de los pozos individuales espacialmente estructurados se suaviza. (d) Con una restricción significativa de la no-localidad preparada, o bien su remoción, todos los modos del potencial geométrico son filtrados, quedando sólo los vértices de los pozos Lorentzianos. Fuente: Elaboración propia.

Lorentzianos, cuyos vértices están separados por el correspondiente vector ξ_D . Los vértices de cada pareja de dichos conos Lorentzianos están ubicados de tal manera que el vértice del modo del potencial geométrico que los modula se ubica en el punto medio entre ellos, Figura 5(a).

Siguiendo esta regla, se pueden identificar por inspección los modos del potencial geométrico que modulan espacialmente a cada pozo Lorentziano, Figura 5 (b), y también puede observarse el efecto de la no-localidad preparada en el plano E sobre las modulaciones de los pozos individuales espacialmente estructurados, Figura 5 (c), (d). En efecto, cuando la no-localidad preparada cubre todos los vértices de los pozos Lorentzianos con altos valores, la totalidad de los modos del potencial geométrico se involucra de manera significativa en la estructuración espacial de los pozos; sin embargo, a medida que la no-localidad se restringe, ya sea en extensión o por reducción de sus valores, modos específicos son filtrados por la función de no-localidad y su modulación en la pareja de conos correspondiente o bien disminuye o es suprimida. En otras palabras, la función de no-localidad es un filtro modal del potencial geométrico.

Una peculiaridad importante de los pozos individuales espacialmente estructurados es que sus secciones transversales pueden contener valores negativos (Figura 4). Teniendo en cuenta que, por su mecanismo de detección, los detectores de módulo cuadrado sólo registran valores positivos, se concluye que las zonas de valores negativos de un pozo individual son prohibidas para el confinamiento de energía ondulatoria o de partículas materiales. Es decir, cada pozo individual tendrá zonas de confinamiento y zonas prohibidas para la perturbación ondulatoria o las partículas que emergen de su vértice.

No obstante, la ecuación (12) indica que el pozo resultante del solapamiento de todos los pozos individuales espacialmente estructurados no puede contener valores negativos, de suerte que sólo puede tener zonas prohibidas puntuales de valor nulo, que separan a las zonas de confinamiento. Este comportamiento indica que las zonas prohibidas de un pozo individual dado son eliminadas por los valores positivos de las zonas de confinamiento de los otros pozos individuales. Tal requerimiento hace que el conjunto de pozos individuales espacialmente estructurados, involucrados en un experimento de interferencia, no sea separable en general. Más aún, al solapar las zonas prohibidas de los pozos individuales con las zonas de confinamiento de los demás pozos, los valores de las zonas de confinamiento son reducidos por los valores negativos de las zonas prohibidas. Así, la energía de las ondas o la densidad de partículas confinadas en un pozo individual serán menores en las zonas que coinciden con zonas prohibidas de los demás pozos individuales. Por último, teniendo en cuenta la ecuación (5), se llega a

$$\begin{aligned}
 & 2\text{Re} [\Phi(\xi_+, \xi_-, \mathbf{r}_A, \mathbf{z}, k) \exp[i\alpha(\xi_+, \xi_-) + i\beta(\xi_+, \xi_-)]] \\
 &= \Phi(\xi_+, \xi_-, \mathbf{r}_A, \mathbf{z}, k) \exp[i\alpha(\xi_+, \xi_-) + i\beta(\xi_+, \xi_-)] \\
 &\quad + \Phi^*(\xi_+, \xi_-, \mathbf{r}_A, \mathbf{z}, k) \exp[-i\alpha(\xi_+, \xi_-) - i\beta(\xi_+, \xi_-)], \\
 &= \Phi(\xi_+, \xi_-, \mathbf{r}_A, \mathbf{z}, k) \exp[i\alpha(\xi_+, \xi_-) + i\beta(\xi_+, \xi_-)] \\
 &\quad + \Phi(\xi_-, \xi_+, \mathbf{r}_A, \mathbf{z}, k) \exp[i\alpha(\xi_-, \xi_+) + i\beta(\xi_-, \xi_+)]
 \end{aligned} \tag{16}$$

lo que indica que tal expresión es no-factorizable.

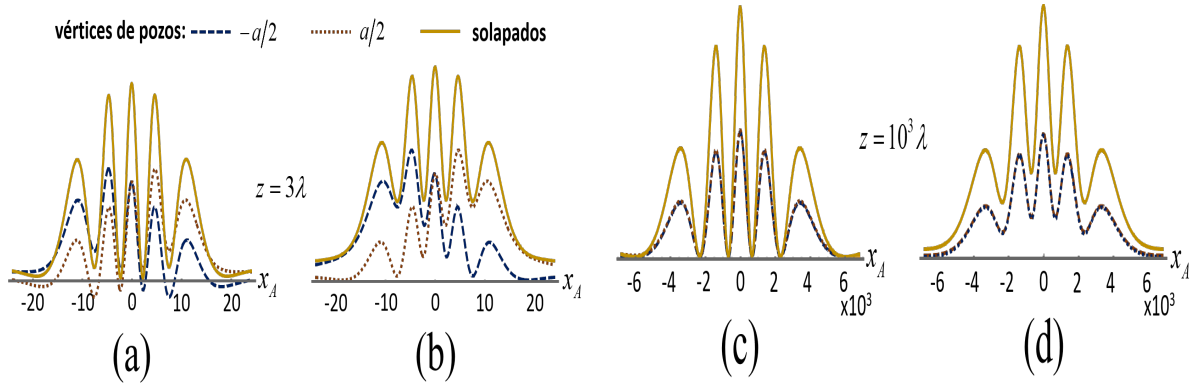


Figura 6: Entrelazamiento espacial en un experimento de interferencia de Young (máscara de doble abertura puntual con separación a). Las gráficas muestran los perfiles transversales de los pozos individuales y su solapamiento cerca al plano E en (a), (b) y en campo lejano en (c), (d) (λ es la longitud de onda empleada, que puede corresponder a ondas o partículas, por lo que las unidades de los ejes son arbitrarias). La no-separabilidad de los dos pozos individuales espacialmente estructurados bajo valores significativos de no-localidad preparada en el plano E se evidencia en el solapamiento de las zonas prohibidas de cada cono con las zonas de confinamiento del otro en (a). El valor del pozo solapado es positivo pero menor que la de la zona de confinamiento del pozo individual. En (c) este efecto se reduce a puntos de valor nulo. Una restricción adecuada de la no-localidad preparada elimina el entrelazamiento, manteniendo la modulación de interferencia en (b) y (d). Fuente: Elaboración propia.

Este aspecto, unido a la no-separabilidad del conjunto de pozos individuales espacialmente estructurados y a la influencia mutua entre las zonas de confinamiento de unos pozos individuales con las zonas prohibidas de los otros pozos, Figura 6, llevan a la conclusión de que los pozos individuales espacialmente estructurados presentan una novedosa forma de entrelazamiento, que denominamos *entrelazamiento espacial*, debido a que se manifiesta en los puntos de solapamiento de zonas prohibidas con zonas de confinamiento como una afectación mutua de estas zonas: los valores positivos del confinamiento eliminan los valores negativos de las zonas prohibidas, a la vez que las zonas prohibidas reducen los valores del confinamiento, Figura 7.

El entrelazamiento espacial puede ser removido debilitando apropiadamente la no-localidad preparada en el plano E , de manera que las zonas prohibidas de los conos individuales sean eliminadas, como se ilustra en la Figura 6. Esto puede lograrse sin eliminar completamente el potencial geométrico, lo que indica que el entrelazamiento espacial es una peculiaridad (no reportada anteriormente) de la interferencia bajo alto grado de no-localidad preparada.

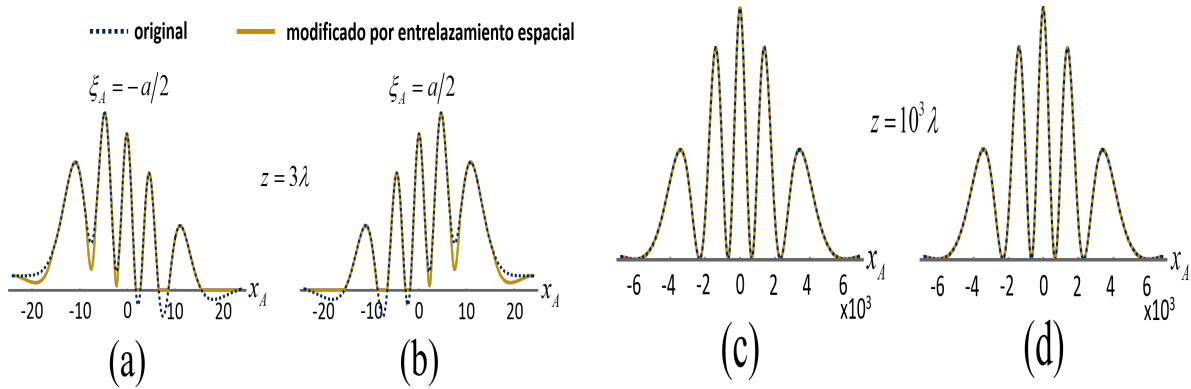


Figura 7: Modificación de los perfiles transversales de los pozos individuales espacialmente estructurados en el experimento de Young de la Figura 5, por entrelazamiento espacial, cerca al plano E en (a), (b) y en campo lejano en (c), (d). Los perfiles modificados constituyen predicciones de detección de la energía de las ondas o de la densidad de partículas provenientes del vértice del pozo correspondiente, ubicado en la posición. Fuente: Elaboración propia.

3. ¿UN NUEVO PRINCIPIO FÍSICO?

Thomas Young (Young, 1804) formuló la explicación de la interferencia en términos de la superposición de ondas emitidas desde las dos aberturas de la máscara ubicada en el plano E . Ese principio se arraigó profundamente en la física, particularmente después de que Augustin-Jean Fresnel lo involucrara en su célebre principio fenomenológico, conocido actualmente como principio de Huygens-Fresnel (Born & Wolf, 1993), desde el cual se explica eficazmente la interferencia y la difracción de la luz. En el siglo 20, la interferencia y la difracción de partículas fue demostrada experimentalmente, primero con electrones por Davisson-Germer y G.P. Thomson y después con diferentes tipos de partículas, incluyendo átomos y moléculas (Feynman *et al.*, 1965; De Martini *et al.*, 1994). Los experimentos más inquietantes fueron realizados con partículas singulares, en los que el resultado final se obtiene acumulando los resultados de realizaciones individuales. Se ha demostrado que la superposición de funciones de onda permite predecir con exactitud el patrón de interferencia final, pero no puede considerarse como un principio fenomenológico, sino como una estrategia matemática que opera en el espacio de Hilbert de las funciones propias del operador Laplaciano en la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo para espacio libre. Esta peculiaridad fue señalada por Feynman como el "único misterio en el corazón de la Mecánica cuántica" (Feynman *et al.*, 1965).

Hasta ahora, no se ha formulado un principio fenomenológico que unifique las descripciones de la interferencia con ondas y con partículas singulares. Pero es plausible esperar que, si existe, dicho principio debe ser diferente al de superposición de funciones de onda, tanto para ondas clásicas como para partículas cuánticas, debido a sus peculiaridades anteriormente señaladas.

En la sección anterior se mostró que el confinamiento en pozos espacialmente estructurados por un potencial

geométrico, explica fenomenológicamente de igual manera la interferencia de ondas y de partículas, proporcionando predicciones precisas de los patrones detectados a través de un aparato matemático no-paraxial y exacto. No obstante, en este contexto, las funciones propias del operador Laplaciano en la ecuación de Helmholtz, que describe la componente espacial tanto de la ecuación de ondas como de la ecuación de Schrödinger para espacio libre, no se interpretan como frentes de onda que se propagan, sino como condiciones geométricas con las que el espacio responde a la propagación. De esta manera, el espacio se incorpora como una entidad física, al lado de las ondas y las partículas, cuyas propiedades geométricas no son Newtonianas: en lugar de ser uniforme, isotrópico e indiferente frente a la propagación de ondas y partículas descritas por una ecuación de Helmholtz, el espacio configura pozos Lorentzianos que confinan la energía de las ondas y la densidad de partículas en propagación.

Por otra parte, la no-localidad preparada geométricamente sobre el plano de la máscara de interferencia, activa el potencial geométrico como agente externo que modula espacialmente, en zonas de confinamiento, el volumen de los pozos Lorentzianos, produciendo pozos espacialmente estructurados. Así, la energía de las ondas o la densidad de partículas que parten del vértice se propagarán a lo largo de las regiones de confinamiento del correspondiente pozo individual espacialmente estructurado. Esta modulación de pozos Lorentzianos por potenciales geométricos realiza, en el espacio ordinario y de manera geométrica, la afirmación (Castañeda, 2016)

La causa necesaria y suficiente para la interferencia tanto de la luz como de la materia es la interacción entre cada emisor puntual real y los emisores puntuales virtuales, distribuidos en el plano de entrada de la etapa de realización del experimento en el interferómetro.

También se mostró que, bajo valores significativos de no-localidad preparada, los pozos individuales espacialmente estructurados estarán espacialmente entrelazados, de modo que su conjunto no es separable. Esta peculiaridad no se reporta en ninguna de las formulaciones convencionales, clásica o cuántica, de la interferencia.

El análisis anterior nos autoriza entonces a formular un principio de interferencia alternativo y completamente diferente al principio de superposición de ondas, que especifica de manera más precisa la afirmación citada:

El principio fenomenológico de la interferencia en espacio libre es el confinamiento de la energía de las ondas o la densidad de las partículas en pozos Lorentzianos espacialmente estructurados por potenciales geométricos, que son activados por la no-localidad preparada en el plano de la máscara de interferencia. Bajo valores significativos de la no-localidad, dichos pozos estarán espacialmente entrelazados.

Por lo tanto, desde este principio la interferencia se describe así: la perturbación ondulatoria o la partícula singular emitidas en un punto del plano de la fuente (F) se propagan confinadas en un pozo y, a la vez, en

un cono de correlación, hacia el plano de la máscara de interferencia (E). Los puntos de llegada a este plano estarán determinados por la base del pozo y estarán vinculados por la condición de no-localidad preparada, que determina la base del cono de correlación. La perturbación ondulatoria o la partícula singular que arriba a un punto dentro de una abertura de la máscara se propagará, de allí hacia el plano del detector (S), a lo largo de una de las zonas de confinamiento del pozo Lorentziano espacialmente estructurado con vértice en dicha abertura; y es registrada en el punto de llegada dentro de dicha zona de confinamiento. Esta descripción fenomenológica corresponde rigurosamente al modelo matemático de cada etapa de la interferencia, discutido y documentado en la sección anterior, por lo que no se basa en hipótesis intuitivas o ajenas a ese modelo; el cual, a su vez, proviene de la solución exacta a la ecuación de onda clásica para espacio libre y a la ecuación de Schrödinger para regiones del espacio libres de campos.

El principio alternativo que se propone tiene, entonces, implicaciones novedosas y originales para la comprensión fenomenológica de la interferencia. En primer lugar, el principio es único e igual para la interferencia tanto de ondas como de partículas, de suerte que la descripción en términos del confinamiento en espacio ordinario es la misma para ondas y para partículas. Esta generalidad del principio no se refiere a la naturaleza física de las ondas y las partículas, pues le confiere el rol primordial en interferencia al espacio ordinario. En consecuencia, las hipótesis motivadas por la dualidad onda-partícula son innecesarias.

Tal generalidad elimina, por lo tanto, la asimetría de las descripciones de la interferencia basadas en la superposición de ondas, en los formalismos convencionales de la óptica y la mecánica cuántica. En óptica, las ondas son entes físicos con existencia en el espacio ordinario, de suerte que la interferencia, como resultado de su superposición, es un fenómeno físico bien establecido. En contraste, en mecánica cuántica, las ondas son funciones del espacio de Hilbert, sin existencia en el espacio ordinario; así, su superposición es una estrategia de predicción matemática de la densidad de probabilidad de las partículas registradas por el detector. Dicha superposición no se considera un fenómeno físico en propiedad, de manera que la fenomenología del comportamiento de las partículas entre su emisión y su detección no está bien establecida, no obstante, la excelente precisión en la predicción de la densidad de probabilidad. Este "misterio" fue señalado por Feynman como se mencionó anteriormente.

Alrededor de la estrategia de predicción cuántica de la interferencia de partículas mediante superposición de funciones de onda en el espacio de Hilbert se han establecido algunas hipótesis exóticas. Considerando los experimentos con partículas singulares, la exigencia matemática de que la función de onda cubra las rendijas de la máscara de interferencia de manera espacialmente correlacionada ha conducido a las nociones de "partículas deslocalizadas" y "auto-interferencia", ampliamente popularizadas. Es un hecho que tanto la emisión como la detección de partículas son eventos locales, así que la deslocalización debe ocurrir en el plano de la máscara de interferencia y debe ser removida por colapso de la función de onda en el plano del detector. La fenomenología del confinamiento no requiere de estas hipótesis, pues muestra que los eventos de emisión, cruce de la máscara de interferencia y detección son locales, tanto para partículas singulares

como para ondas. La no-localidad, que se prepara sobre el plano de la máscara también de manera geométrica, como un comportamiento del espacio, activa la modulación espacial en zonas de confinamiento para la interferencia, mediante el potencial geométrico. De esta manera, la deslocalización de las partículas que arriban a la máscara, su auto-interferencia luego de que atraviesan la máscara y el colapso de su función de onda para asegurar una detección local son hipótesis innecesarias en el marco de la fenomenología de confinamiento.

En esta fenomenología única y general, basada en el principio de confinamiento, también la descripción óptica de la interferencia de ondas se ve modificada. Convencionalmente, la correlación espacial requerida en el plano de la máscara se considera un atributo del campo óptico. La demostración de que las propiedades de correlación de la fuente de ondas no son una condición necesaria para la preparación de la función de no-localidad en la máscara pone en cuestión el rol de ese atributo, permitiendo que se considere como un comportamiento del espacio. Es claro, por supuesto, que hacer interferencia con una fuente coherente como un láser no es igual a hacerla con una fuente incoherente como la luz solar, como se explicó anteriormente. Sin embargo, la consistencia de la explicación fenomenológica de la interferencia considerando la preparación de la no-localidad como un comportamiento del espacio, respalda la generalidad del principio de confinamiento, cubriendo también a la óptica.

Es oportuno aclarar que no se incluye explícitamente la interferencia con fotones singulares porque, aunque los experimentos se realicen atenuando apropiadamente ciertas fuentes de luz, en la teoría esa atenuación se realiza cuantizando el campo electromagnético en las ecuaciones de Maxwell (Scully & Zubairy, 1997). Es un procedimiento muy conocido que conduce a la cuantización de las condiciones de frontera en las ecuaciones de nuestro modelo. Sin embargo, ese es un tema cuyos detalles sobrepasan los objetivos de este artículo y motivan la escritura de artículos posteriores. Los alcances de este artículo, que son fundamentalmente teóricos, apuntan a la formulación de una fenomenología única y causal (es decir, una descripción en el espacio ordinario, que es el ámbito donde se realizan los experimentos) de la interferencia con ondas clásicas y partículas masivas. Consideramos que esta meta se ha alcanzado por el respaldo que brindan las predicciones exactas de interferencia, particularmente con partículas como electrones, moléculas de fullereno C60 y otras moléculas orgánicas (Castañeda *et al.*, 2016b; Castañeda *et al.*, 2016a; Castañeda & Matteucci, 2017).

4. ¿ES LA INTERFERENCIA UN CASO DE DIFRACCIÓN?

Un aporte adicional de esta descripción fenomenológica apunta a esclarecer una discusión de largo tiempo sobre cuál de los dos fenómenos, interferencia o difracción, incluye al otro como un caso particular o si se trata de dos fenómenos diferentes. Como soporte de la discusión, consideremos un caso particular pero representativo: el pozo Lorentziano espacialmente estructurado obtenido cuando insertamos una máscara de cinco aberturas puntuales colineales y regularmente espaciadas, con espaciamiento a y longitud de arre-

glo $L = 4a$, bajo valores significativos de no-localidad. La Figura 5 (a), (b) ilustra el espectro de emisores puntuales correspondiente, de manera que los cinco pozos Lorentzianos se distribuyen en el volumen de la etapa de medición del interferómetro como se ilustra en la Figura 2 (e), (f). Estos dos grafos mantienen su morfología independientemente del valor del espaciamiento.

Sin embargo, el potencial geométrico varía significativamente de morfología con el espaciamiento, estructurando espacialmente los pozos Lorentzianos como se ilustra en la Figura 8. Si $a > \lambda$, el potencial geométrico presentará un entramado de zonas de confinamiento cerca al plano de la máscara, llamado Alfombra de Talbot (Case *et al.*, 2009) que, ya en campo lejano, determina un conjunto definido de zonas de confinamiento principales separadas por un cierto número de zonas de confinamiento secundario de muy poca capacidad. Este conjunto es morfológicamente invariante a lo largo del eje del pozo (solo se esparce angularmente con el esparcimiento del pozo).

Las zonas de confinamiento en campo lejano no tienen la misma capacidad de confinamiento ni el mismo ancho debido, respectivamente al perfil Lorentziano del pozo y a la no-linealidad del argumento de la función armónica del potencial geométrico. Las secciones transversales de pozos espacialmente estructurados bajo esta condición, como el ilustrado en la Figura 8 (a) para $a = 3\lambda$ y $L = 12\lambda$, determinan lo que llamamos usualmente patrón de interferencia, Figura 8(b).

Si reducimos continuamente el espaciamiento, manteniendo el mismo número de aberturas en el arreglo, la extensión y complejidad de la alfombra de Talbot se reduce significativamente y la separación angular de las modulaciones principales del potencial geométrico en campo lejano aumenta, de suerte que las más alejadas del eje de la envolvente Lorentziana quedan por fuera de la apertura angular del pozo y son filtradas. Así, cuando se tiene $a \leq \lambda$ y $L > \lambda$, el potencial geométrico sólo consistirá de la zona de confinamiento principal axial con algunas zonas secundarias aledañas, que se han ensanchado angularmente hasta ocupar el volumen del pozo Lorentziano, como se ilustra en la Figura 8(c) para $a = 0.8\lambda$ y $L = 3.2\lambda$. Las secciones transversales de pozos espacialmente estructurados bajo esta condición son llamadas usualmente patrones de difracción, Figura 8 (d).

Puede decirse entonces que llamamos interferencia a la estructuración espacial del pozo Lorentziano cuya componente de menor frecuencia espacial estará determinada por la condición de filtrado de paso alto $a > \lambda$, realizada por la función de transmisión no-local de la máscara. Componentes de frecuencia espacial más baja, $a \leq \lambda$, son requeridas en difracción, siempre y cuando la banda de frecuencias espaciales contenga componentes de alta frecuencia delimitadas por la condición $L > \lambda$. En otras palabras, a los términos interferencia y difracción se les puede asociar significados espectrales (en la banda de frecuencias espaciales) muy precisos y diferenciados, que no hacen referencia a los criterios convencionales basados en el número y distribución de emisores en el plano E .

Si $(\lambda/10) < L \leq \lambda$, las zonas de confinamiento secundarias son removidas y sólo se mantiene la zona princi-

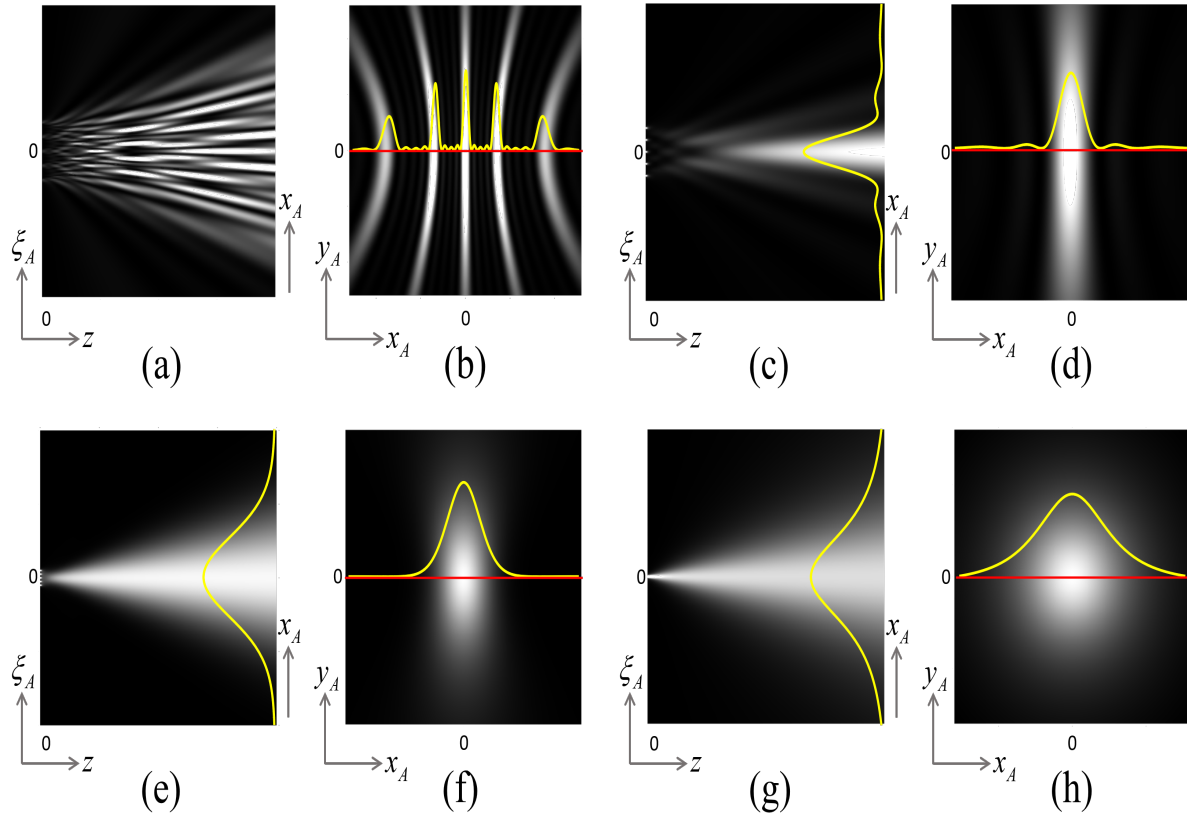


Figura 8: De interferencia a difracción. Perfiles axiales cerca al plano E (a, c, e, g) y transversales en campo lejano (b, d, f, h) de pozos Lorentzianos espacialmente estructurados, asociados a un arreglo lineal de cinco aberturas puntuales en el plano E , regularmente espaciadas con espaciamento y longitud del arreglo (a, L) así: $(3\lambda, 12\lambda)$ en (a)-(b), $(0.8\lambda, 3.2\lambda)$ en (c)-(d), $(0.25\lambda, \lambda)$ en (e)-(f) y $(\lambda/40, \lambda/10)$ en (g)-(h). Fuente: Elaboración propia.

pal axial, pero con un ancho angular menor que la apertura angular del pozo Lorentziano, que es de alrededor de 70° (considerando un decaimiento del perfil Lorentziano del 95 %) como se ilustra en las Figuras 8(e)-(f) para $a = \lambda/4$ y $L = \lambda$. Esta peculiaridad del potencial geométrico indica que patrones de difracción con zonas de confinamiento secundarias sólo se obtienen con distribuciones discretas de emisores reales apropiadamente espaciadas, una característica que se reportó por primera vez en óptica (Castañeda, 2017), pero que constituye una propiedad general del potencial geométrico.

Finalmente, si $L \leq (\lambda/10)$ la zona de confinamiento axial se habrá esparcido angularmente coincidiendo con la envolvente Lorentziana del potencial geométrico, de modo que no podrá modular al pozo Lorentziano sino que simplemente coincidirá con su volumen, como se ilustra en la Figura 8 (g) para $a = \lambda/40$ y $L = \lambda/10$. Se destaca que la sección transversal adquiere simetría de rotación a pesar de que el arreglo de aperturas puntuales es lineal, como se aprecia en la Figura 8 (h). Es decir, el pozo Lorentziano del arreglo adquiere la morfología del pozo Lorentziano de una única abertura puntual, ubicada en el centro del arreglo.

Esto conduce a la conclusión, ya reportada en óptica (Castañeda & Moreno, 2019) de que el confinamiento bajo esta condición es independiente del número de aberturas puntuales del arreglo, su distribución espacial y sus relaciones no-locales. Se destaca el hecho de que el potencial geométrico no aumenta la apertura angular del pozo Lorentziano a pesar de que el espaciamiento del arreglo sea mucho menor que su longitud. Este aspecto confirma al pozo Lorentziano como la respuesta natural de confinamiento en el espacio libre, ante la propagación de ondas o partículas.

5. CONCLUSIONES

Se ha demostrado que el confinamiento en pozos Lorentzianos es la respuesta natural del espacio libre a la propagación de ondas o partículas. En interferencia y difracción, los pozos Lorentzianos son espacialmente estructurados por el potencial geométrico activado por la no-localidad preparada en el plano de la máscara de interferencia. El confinamiento espacialmente estructurado se propone como principio fenomenológico único para la interferencia y la difracción tanto de ondas como de partículas.

Adicionalmente, se mostró que los pozos individuales espacialmente estructurados bajo valores significativos de no-localidad preparada están espacialmente entrelazados, y que interferencia y difracción son modalidades de confinamiento espacialmente estructurado en conjuntos discretos de pozos, que sólo difieren en la banda de frecuencias espaciales involucradas en las modulaciones.

Agradecimientos

El autor está en deuda con el profesor Giorgio Matteucci (Univertistá degli Studi di Bologna, Italia) y con sus estudiantes de Ingeniería Física: Jaime Moreno, Julián Laverde y Pablo Bedoya por las inspiradoras

discusiones sobre las ideas presentadas en este artículo.

Referencias

- Arfken, G. (1970). *Mathematical Methods for Physicists*, Second edition. Academic Press.
- Bach, R., Pope, D., Liou S. H. & Batelaan, H. (2013). Controlled double-slit electron diffraction. *New J. Phys.*, 15, 033018.
- Born, M. & Wolf, E. (1993). *Principles of Optics*. Oxford.
- Case, W. B., Tomandl, M., Deachapunya, S. & Arndt, M. (2009). Realization of optical carpets in the Talbot and Talbot-Lau configurations. *Opt. Exp.* 17, 20966–20974.
- Castañeda, R. (2016). Fundamentos conceptuales de una Teoría de Interferencia unificada para ondas y partículas. *Revista de la Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín*, 5(1), 76–97. <https://doi.org/10.15446/rev.fac.cienc.v5n1.55861>
- Castañeda, R. & Muñoz, H. (2016). Spectrum of classes of point emitters: new tool for nonparaxial optical field modeling. *J. Opt. Soc. Am. A*, 33, 1421 – 1429.
- Castañeda, R., Matteucci, G. & Capelli, R. (2016a). Quantum interference without wave - particle duality. *J. Mod. Phys.*, 7, 375 – 389.
- Castañeda, R., Matteucci, G. & Capelli, R. (2016b). Interference of Light and of Material Particles: A Departure from the Superposition Principle. Hawkes, P.H. editor, *Advances in Imaging and Electron Physics*, Vol. 197, Burlington: Academic Press, 1–43.
- Castañeda, R. & Matteucci, G. (2017). New physical principle for interference of light and material particles. Hawkes, P.H. editor, *Advances in Imaging and Electron Physics*, Vol. 204, London: Elsevier -Academic Press, Ch. 1
- Castañeda, R. (2017). Discreteness of the real point emitters as a physical condition for diffraction. . *Opt. Soc. Am. A* 34, 184 – 192.
- Castañeda, R. & Moreno, J. (2019). Three-dimensional nonparaxial characterization of physical point sources. *J. Opt. Soc. Am. A* 36, 1657 – 1662.
- Castañeda, R., Moreno, J., Colorado, D. & Laverde, J. (2020). 3D non-paraxial kernel for two-point correlation modelling in optical and quantum interference at the micro and nano-scales. *Phys. Scr.* 95, 065502 (15pp).
- De Martini, F., Denardo, G. & Zeilinger, A. (1994). *Quantum Interferometry*. World Scientific.

- Feynman, R., Leighton, R. & Sands, M. (1965). The Feynman Lectures on Physics, Volume 3. Addison-Wesley.
- Frabboni, S., Gabrielli, A., Gazzadi, G. C., Giorgi, F., Matteucci, G., Pozzi, G., Cesari, N. S., Villa, M. & Zoccoli, A. (2012). The Young-Feynman two-slit experiment with single electrons: buildup of the interference pattern and arrival-time distribution using a fast-readout pixel detector. *Ultramicroscopy*, 116, 73 – 76.
- Juffmann, T., Milic, A., Muellneritsch, M., Asenbaum, P., Tsukernik, A., Tuexen, J. & Arndt, M. (2012) Real-time single-molecule imaging of quantum interference. *Nanotech*, 7, 297–300.
- Matteucci, G., Pezzi, M., Pozzi, G., Alberghi, G., Giorgi, F., Gabrielli, A., Semprini, N., Villa, M., Zoccoli, A., Frabboni, S. & Gazzadi, G. (2013). Buildup of interference patterns with single electrons. *Eur. J. Phys.*, 34, 511 – 517.
- Scully, M.O. & Zubairy, S. (1997). Quantum Optics. Cambridge University Press.
- Young, T. (1804). The Bakerian Lecture: Experiments and Calculations Relative to Physical Optics. *Phil. Trans. Roy. Soc. Lon.* 94, 1-16.

ANÁLISIS DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE HIERRO DESDE EL LODO ROJO GENERADO EN UNA INDUSTRIA DE ALUMINIO VENEZOLANA^a

ANALYSIS OF THE EXTRACTION PROCESS OF IRON FROM RED MUD GENERATED IN A VENEZUELAN ALUMINUM INDUSTRY

DARWIN LÓPEZ^{b*}, CARLOS LINARES^c, EDITH FIGUEREDO^b

Recibido 14-07-2022, aceptado 18-10-2022, versión final 11-11-2022

Artículo Investigación

RESUMEN: El presente trabajo muestra el estudio del proceso de extracción de hierro proveniente de lodos rojos a través de su lixiviación con ácido sulfúrico (H_2SO_4) bajo un diseño de experimentos factorial de dos niveles con cuatro factores (2^4). Los factores analizados en este trabajo fueron: temperatura de reacción, tiempo de contacto, concentración del ácido y relación líquido a sólido. Se observó que la temperatura de reacción es el factor con mayor incidencia en la cantidad de hierro extraída (80.89 %), seguido de la concentración de ácido (3.54 %). La interacción de segundo orden (relación líquido a sólido y temperatura de reacción), de tercer orden (concentración, tiempo y temperatura de reacción) y cuarto orden (concentración de ácido, tiempo de contacto, relación líquido-sólido y temperatura de reacción) afectan de manera significativa la variable respuesta. En base a los factores e interacciones más significativas, se seleccionó como mejor condición para la lixiviación: 30 %v/v de ácido sulfúrico, 3 horas de reacción, relación líquido a sólido 30 mL/g y temperatura de 100 °C.

PALABRAS CLAVE: Diseño de experimentos; hierro; lixiviación; lodo rojo.

ABSTRACT: The present work shows the study of the iron extraction process from the red mud by its leaching with sulfuric acid (H_2SO_4) through a factorial design of two levels and four factors (2^4). The analyzed factor in this work was: reaction temperature, time of contact, acid concentration and the liquid to solid ratio were varied. It was observed that the temperature is the factor with the greatest influence on the quantity of extracted iron (80.89 %), following the acid concentration (3.54 %). The second order (liquid to solid ratio and reaction temperature), the third order (concentration, time and reaction temperature) and the fourth order (acid concentration, time of contact, solid to liquid ratio and reaction temperature) interactions affect significantly the response factor. On basis to the most significant factors and interactions, it was selected as the best condition for leaching: 30 %v/v acid sulfuric concentration, 3 hour of reaction, liquid to solid ratio 30 mL/g and a temperature of 100°C.

^aLópez, D., Linares, C. & Figueredo, E. (2023). Análisis del proceso de extracción de hierro desde el lodo rojo generado en una industria de aluminio venezolana. *Rev. Fac. Cienc.*, 12 (1), 47–58. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.fac.cienc.v12n1.103693>

^bDepartamento de Ingeniería Ambiental, Escuela de Ingeniería Civil, Facultad de Ingeniería, Universidad de Carabobo, Valencia. Edo. Carabobo, Venezuela.

* Autor para correspondencia: dlopez34@uc.edu.ve

^cDepartamento de Química, Facultad Experimental de Ciencias y Tecnología, Unidad de Síntesis de Materiales y Metales de Transición, Universidad de Carabobo, Valencia. Edo. Carabobo, Venezuela.

KEYWORDS: Experiment design; iron; leaching; red mud.

1. INTRODUCCIÓN

El proceso Bayer, es el método más utilizado a nivel industrial para la extracción de alúmina (Al_2O_3) de la bauxita, el cual se basa en la extracción selectiva de los componentes en el mineral mediante una disolución alcalina (Zinoveev *et al.*, 2021). La fracción insoluble del mineral, es el residuo sólido conocido como lodo rojo (Zinoveev *et al.*, 2021), cuya apariencia rojiza se debe a su alto contenido en hierro (Agrawal *et al.*, 2018). Por cada tonelada de Al_2O_3 se generan aproximadamente entre 0.8 y 1.5 toneladas de lodo rojo (Evans, 2016; Vasters & Franken, 2020) que varían dependiendo de la calidad de la materia prima y de las condiciones del proceso (Agrawal *et al.*, 2018). Para el año 2017, se produjeron entre 155 y 175 millones de toneladas de lodo rojo (Vasters & Franken, 2020), y para 2020 la cantidad almacenada a nivel mundial excedió los 5 billones de toneladas (Qi, 2021). En Venezuela se tenía una producción acumulada de 14 millones de toneladas entre los años 1983 y 2000 (Galarraga *et al.*, 2002). Se estima que más de 35 millones de toneladas de lodo rojo se encuentran almacenadas en los sistemas lagunares de la Corporación Venezolana de Guayana (CVG) Bauxilum (Centeno-Bordones & Jiménez, 2020).

A nivel mundial, sólo alrededor del 15 % del lodo rojo generado anualmente se recicla (Zhang *et al.*, 2018) y la mayor parte se dispone en rellenos, lagunas o en el lecho marino (Zinoveev *et al.*, 2021). Debido a su elevada alcalinidad (pH entre 10 y 12.5), alto contenido de óxidos de hierro, de aluminio, de titanio y cantidades traza de otros elementos metálicos tóxicos (Sc, Mn, Ct, Nb, Ga, Zr, Sn, Cu, Zn, Y, U, Th) (Zinoveev *et al.*, 2021; López & Linares, 2018), esta gran cantidad de lodo rojo almacenado ha ocasionado serios problemas ambientales en los países productores, que incluyen contaminación de suelo, de aguas subterráneas, e incluso contaminación marina. Además, su almacenamiento en lagunas o piscinas, ocupa grandes áreas de terreno, y el lodo rojo secado por el aire puede conducir a contaminación por partículas, la cual es un serio problema de salud para las personas que viven cerca de dichas instalaciones (Li *et al.*, 2017). La construcción y el mantenimiento de las instalaciones diseñadas para este fin requieren grandes cantidades de recursos, material financiero y humano (Zinoveev *et al.*, 2021).

Varios accidentes industriales asociados al lodo rojo se han registrado, como el ocurrido en el año 2010, en la refinería de aluminio de Akja (Hungría), en el cual 700.000 m^3 de una mezcla acuosa de este material se derramaron destruyendo la flora y la fauna en las localidades cercanas (Ruyters *et al.*, 2011; Mayes *et al.*, 2016). La situación descrita anteriormente, ha impulsado la necesidad de encontrar usos para este residuo peligroso, por ejemplo, la extracción de elementos metálicos como las tierras raras mediante diferentes tipos de ácidos minerales y mezclas de éstos (Karimi *et al.*, 2018; Borra *et al.*, 2016), escandio mediante una mezcla de ácido clorhídrico-EDTA y ácido sulfúrico (Zhou *et al.*, 2018; Lymperopoulou *et al.*, 2019), y de hierro mediante el uso de diversos como el acético (Yang *et al.*, 2015) o ácido sulfúrico (H_2SO_4) variando las condiciones del proceso (Debadatta & Pramanik, 2013; Magalhães *et al.*, 2012).

El propósito del presente trabajo es mostrar el estudio del proceso de extracción del hierro presente en el lodo rojo proveniente de la planta refinadora de alúmina CVG Bauxilum C.A., ubicada en Guayana, Venezuela, utilizando ácido sulfúrico, para determinar las condiciones más adecuadas del proceso mediante un diseño de experimentos factorial de dos niveles (2^k). El análisis de este proceso permitiría establecer las aplicaciones industriales del residuo generado, ya que el hierro extraído podría ser utilizado en la producción de óxidos de hierro, los que a su vez son de gran importancia en áreas como la catálisis y pigmentos. El mencionado material, también podría usarse como materia prima en la producción de sulfato férrico polimérico una sustancia muy utilizada en el tratamiento de agua (Liu *et al.*, 2009).

2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

2.1. Digestión del lodo rojo

Se pesó un gramo de lodo rojo seco, y posteriormente se transfirió a un balón esmerilado de 100 mL provisto de dos bocas. Luego, se añadió un volumen de solución de ácido sulfúrico (H_2SO_4) de concentración 20 %v/v o 30 %v/v. La mezcla obtenida se colocó en el equipo de reflujo. El sólido se mantuvo en digestión por un periodo de tiempo específico, contado desde el momento en que la mezcla alcanzó la temperatura deseada, el control de esta variable se realizó de forma manual, empleando un termómetro de vidrio marca Taylor. Finalizada la reacción, se procedió a filtrar al vacío, utilizando papel de filtro Whatman con tamaño de poro de $2.0\mu m$, y lavados con agua destilada hasta pH neutro, conservándose, además del filtrado, el primer lavado.

2.2. Caracterización del filtrado

La determinación de la concentración de hierro presente en la fase líquida se realizó mediante espectroscopia de absorción atómica (AA) por aspiración directa en llama de aire-acetileno, empleando un espectrofotómetro GBC 932 AA, en un rango de barrido entre 2 y 80 ppm y una longitud de onda de 372 nm. En este sentido, se realizó una dilución de la muestra en proporción: 1/100. El espectrofotómetro fue calibrado con patrones de concentraciones comprendidas entre 5 y 80 ppm. Mediante interpolación en la curva obtenida se determinó la concentración de hierro en la muestra.

2.3. Diseño de experimentos factorial 2^k completo

Para el análisis se aplicó un diseño de experimentos factorial de dos niveles completo, para el cual se seleccionaron cuatro factores: temperatura de reacción, tiempo de contacto, concentración de ácido, y relación líquido a sólido (Tabla 1) considerados en investigaciones similares donde se analizó el proceso de extracción de metales del lodo rojo (Karimi *et al.*, 2018; Lymperopoulou *et al.*, 2019; Debadatta & Pramanik, 2013; Magalhães *et al.*, 2012; Yanmei, 2021; dos Passos *et al.*, 2015). Los niveles de la variable

Tabla 1: Variables y niveles seleccionados para diseño 2^4 . Fuente: López-Uscátegui (2016)

Factores	Min	Max
Concentración de ácido (%v/v) A	20	30
Tiempo de contacto (h) B	2	3
Relación líquido a sólido (mL/g) C	20	30
Temperatura de reacción ($^{\circ}$ C) D	70	100

temperatura de reacción se fijaron por encima de 70°C , ya que por debajo de este valor la extracción de hierro es poco significativa (Liu *et al.*, 2009); para los demás factores se consideraron los niveles establecidos por Debadatta & Pramanik (2013), Magalhães *et al.* (2012) y dos Passos *et al.* (2015).

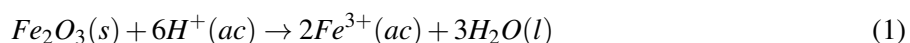
De acuerdo a Lymperopoulou *et al.* (2019), el ácido sulfúrico (H_2SO_4) tiene un impacto ambiental moderado, si se compara con otros ácidos minerales a la misma concentración.

Se realizaron dos réplicas, dando un total de 32 corridas. Como variable respuesta se seleccionó la masa de hierro extraído por gramo de lodo rojo (gFe/g de lodo rojo), la matriz del diseño, el análisis de varianza, y la validación de los supuestos se realizó empleando un software estadístico (Minitab 16). La caracterización inicial de hierro en el residuo fue presentada por López & Linares (2018) y López-Uscátegui (2016), donde se observa el alto contenido de aluminio y hierro en el residuo: $(43.944 \pm 0.001) \% \text{Al}$ y $(36.432 \pm 0.001) \% \text{Fe}$.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Proceso de extracción

La ecuación química mostrada describe la reacción involucrada en la lixiviación del hierro, en el cual se alcanza la neutralización total del lodo rojo. El óxido férrico se transforma en su sulfato (Debadatta & Pramanik, 2013; Liu *et al.*, 2009):



En algunas investigaciones se ha modelado este proceso, mediante estudios cinéticos y difusionales, encontrándose una buena adaptación al modelo de difusión intrapartícula para lodos rojos no calcinados (Liu *et al.*, 2009). En el caso de lodos previamente calcinados, existe una buena adaptación al modelo de núcleo no reaccionado, observándose que la cinética del proceso de lixiviación es controlada por la reacción química (dos Passos *et al.*, 2015).

Los fenómenos químicos y de transporte de masa, antes mencionados, justifican que después de realizada la lixiviación, existiese una disminución en la cantidad de masa del residuo, debido a la extracción del

hierro y de otros metales presentes como impurezas en el lodo rojo. También se observó una pérdida de la coloración roja, característica del residuo de bauxita, debido a la hidratación y posterior disolución de la hematita presente, a las elevadas condiciones de acidez utilizadas en el proceso de lixiviación, permitiendo la formación de acuocomplejos férricos (Jang *et al.*, 2007; Centeno-Bordones *et al.*, 2020). El sólido retenido en el filtró presentó una coloración amarilla, atribuible a fases no solubles como cuarzo (SiO_2), o compuestos de aluminio en forma de *k*-feldespato (Liu *et al.*, 2009), como la albita (López & Linares, 2018), aunque también podría estar presente la fase amorfa limonita que precipitaría debido al incremento del pH del sólido durante el lavado (Centeno-Bordones & Jiménez, 2020).

3.2. Diseño de experimentos factorial

En la matriz (Tabla 2) se muestra la variable respuesta, cantidad de hierro extraída, obtenida al variar el conjunto de variables independientes, la concentración de ácido sulfúrico (A), el tiempo de contacto (B), la relación líquido a sólido (C) y la temperatura de reacción (D).

De acuerdo al coeficiente de determinación ajustado (R^2 -ajustada) (Gutiérrez & De la Vara, 2008), el modelo de regresión obtenido describe un 91.15 %, de la variabilidad de la respuesta, por lo que los factores estudiados son responsables o explican en un alto porcentaje la variabilidad observada en la cantidad de hierro extraído del lodo rojo. En cuanto a los supuestos del ANOVA, al aplicar la prueba de Ryan-Joiner se observa que el coeficiente de correlación de los datos con sus puntuaciones normales es cercano a la unidad (0.978) con un valor-p mayor a 0.100, por lo que no se puede rechazar la hipótesis nula de normalidad con un nivel de confianza de 95 %. La independencia se midió mediante la prueba de Durbin-Watson, con un valor de 2.24 para el estadístico, el cual es mayor que la cota superior para los valores de la prueba (Gutiérrez & De la Vara, 2008), afirmando que no existe correlación entre los residuos. El supuesto de varianza constante se verificó mediante la prueba de Bartlett donde el estadístico de la prueba resultó ser 20.21 con un valor p de 0.164, aceptándose la hipótesis nula de igualdad de varianzas. Por lo tanto, el modelo estadístico aplicado cumple con los supuestos del ANOVA.

En cuanto a los efectos principales, la concentración de ácido sulfúrico y la temperatura presentan un p-valor menor a 0.05 indicando que afectan significativamente la cantidad de hierro extraído con un nivel de confianza de 95 % (Tabla 3). La temperatura contribuye en un 80,89 % a la variabilidad de la respuesta (Tabla 4), con un efecto positivo, lo cual concuerda con el resultado obtenido por Lymperopoulou *et al.* (2019). El aumento de la lixiviación del hierro con la temperatura (Debadatta & Pramanik, 2013; Liu *et al.*, 2009), lo cual se debe al incremento de la energía cinética de las moléculas presentes en el líquido, las cuales chocan con más frecuencia contra las partículas del lodo rojo, intensificando su movimiento Browniano y favoreciendo su difusión (Yanmei, 2021), además, la constante de equilibrio de la reacción también se incrementa con la temperatura (Liu *et al.*, 2009). La concentración de ácido sulfúrico presenta una contribución de 3.54 % a la variabilidad de la cantidad de hierro extraído (Tabla 4), al aumentar esta variable aumenta la concentración de iones hidronio (H^+) presentes en la solución, facilitando su reacción con el óxido de hierro (ecuación 1);

Tabla 2: Cantidades extraídas de hierro para cada corrida del diseño de experimentos 2^4 . Fuente: López-Uscátegui (2016)

Orden Estándar	Variable				Variable codificada				Etiqueta	$(m_{Fe} \pm 0.003)$ g Fe/g lodo
	A(% v/v)	B(h)	C(mL/g)	D ($^{\circ}C$)	x_1	x_2	x_3	x_4		
1	20	2	20	70	-1	-1	-1	-1	(1)	0.147
2	30	2	20	70	1	-1	-1	-1	a	0.130
3	20	3	20	70	-1	1	-1	-1	b	0.150
4	30	3	20	70	1	1	-1	-1	ab	0.150
5	20	2	30	70	-1	-1	1	-1	c	0.113
6	30	2	30	70	1	-1	1	-1	ac	0.162
7	20	3	30	70	-1	1	1	-1	bc	0.117
8	30	3	30	70	1	1	1	-1	abc	0.140
9	20	2	20	100	-1	-1	-1	1	d	0.181
10	30	2	20	100	1	-1	-1	1	ad	0.191
11	20	3	20	100	-1	1	-1	1	bd	0.205
12	30	3	20	100	1	1	-1	1	abd	0.201
13	20	2	30	100	-1	-1	1	1	cd	0.212
14	30	2	30	100	1	-1	1	1	acd	0.210
15	20	3	30	100	-1	1	1	1	bcd	0.216
16	30	3	30	100	1	1	1	1	abcd	0.221
17	20	2	20	70	-1	-1	-1	-1	(1)	0.123
18	30	2	20	70	1	-1	-1	-1	a	0.146
19	20	3	20	70	-1	1	-1	-1	b	0.146
20	30	3	20	70	1	1	-1	-1	ab	0.162
21	20	2	30	70	-1	-1	1	-1	c	0.111
22	30	2	30	70	1	-1	1	-1	ac	0.162
23	20	3	30	70	-1	1	1	-1	c	0.144
24	30	3	30	70	1	1	1	-1	abc	0.142
25	20	2	20	100	-1	-1	-1	1	d	0.188
26	30	2	20	100	1	-1	-1	1	ad	0.199
27	20	3	20	100	-1	1	-1	1	bd	0.189
28	30	3	20	100	1	1	-1	1	abd	0.205
29	20	2	30	100	-1	-1	1	1	cd	0.217
30	30	2	30	100	1	-1	1	1	acd	0.199
31	20	3	30	100	-1	1	1	1	bcd	0.182
32	30	3	30	100	1	1	1	1	abcd	0.230

Tabla 3: Análisis de varianza para los datos de extracción de hierro. Fuente: López-Uscátegui (2016)

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F_0	Valor P
A	0.00136	1	0.00136	12.45	0.003
B	0.00037	1	0.00036	3.33	0.071
C	0.00000	1	0.00000	0.01	0.336
D	0.00015	1	0.00015	1.35	0.000
AB	0.00029	1	0.00029	2.62	0.939
AC	0.00028	1	0.00028	2.56	0.124
AD	0.00000	1	0.00000	0.02	0.194
BC	0.03117	1	0.03117	284.31	0.153
BD	0.00020	1	0.00020	1.85	0.974
CD	0.00000	1	0.00000	0.01	0.009
ABC	0.00055	1	0.00055	4.98	0.698
ABD	0.00112	1	0.00112	10.25	0.034
ACD	0.00032	1	0.00032	2.94	0.100
BCD	0.00005	1	0.000048	0.43	0.524
ABCD	0.00092	1	0.00092	8.39	0.009
Error	0.00175	16			

de acuerdo a Yanmei (2021), se incrementan la cantidad de moléculas que pueden ser activadas por unidad de volumen.

Para los niveles estudiados, la relación líquido a sólido y el tiempo presentaron bajas contribuciones a la respuesta ($< 1\%$, Tabla 4). Según Liu *et al.* (2009), el tiempo de vida media ($t^{1/2}$) del proceso de lixiviación del hierro es de 92min a 70 °C y decrece a mayores temperaturas. Yanmei (2021) encontraron que a 100 °C, la concentración de hierro lixiviado se hace constante por encima de los 90 min, lo que explicaría la baja incidencia del tiempo en la variabilidad de la cantidad de hierro extraído. En cuanto a la relación líquido-sólido, al haber una mayor cantidad de solución se espera una mayor solubilización de los metales en la fase sólida (Debadatta & Pramanik, 2013; Yanmei, 2021).

Además, se observa que algunas interacciones presentan un p-valor menor a 0.05 indicando que afectan significativamente la variable respuesta con un nivel de confianza de 95 % (Tabla 3). La interacción de líquido/sólido \times temperatura contribuye en un 2.92 % a la variabilidad de la respuesta (Tabla 4) con un efecto positivo, lo que implica que la relación líquido-sólido debe estar en su valor alto (30 mL/g) para incrementar la cantidad de hierro extraído. La interacción de tercer orden concentración \times tiempo \times temperatura contribuye en 1.42 %, (Tabla 4) con un efecto positivo, por lo que se requiere que el tiempo esté en su valor alto (3 h) para aumentar la cantidad de hierro extraído. Finalmente, la interacción de cuarto orden, que involucra los cuatro factores tiene un peso de 2.39 % (Tabla 4) sobre la variabilidad de la respuesta, y su efecto es positivo, en este sentido para aumentar el valor de la respuesta se requiere que todos los factores se encuentren en su valor alto. En base a este análisis se seleccionaron las siguientes condiciones como las más adecuadas: 30 %v/v, 3 h, 30 mL de ácido/1 g de lodo rojo, y 100 °C.

Tabla 4: Efectos de los factores y suma de cuadrados estimados para el diseño factorial aplicado al proceso de extracción de hierro.
Fuente: López-Uscátegui (2016)

Término del modelo	Estimación del efecto ± 0.000001	Suma de cuadrados ± 0.000001	Contribución porcentual $\pm 0.01 \%$
A	0.013061	0.001365	3.54
B	0.006759	0.000365	0.95
AB	-0.000339	0.000001	0.00
C	0.004301	0.000148	0.38
AC	0.005987	0.000287	0.74
BC	-0.005919	0.000280	0.73
ABC	-0.000503	0.000002	0.01
D	0.062423	0.031173	80.89
AD	-0.005036	0.000203	0.53
BD	0.011853	0.000001	0.00
ABD	0.008259	0.000546	1.42
CD	0.011853	0.001124	2.92
ACD	-0.006346	0.000322	0.84
BCD	0.002442	0.000048	0.12
ABCD	0.010726	0.000920	2.39

El gráfico de superficie estimada (Figura 1) para la cantidad de hierro extraído (gFe/g lodo rojo) en función de los efectos principales significativos (concentración y temperatura) indican que los mayores valores de la variable respuesta, cuyos coeficientes se muestran en la Tabla 5, se presentan para los valores más alto de estos factores.

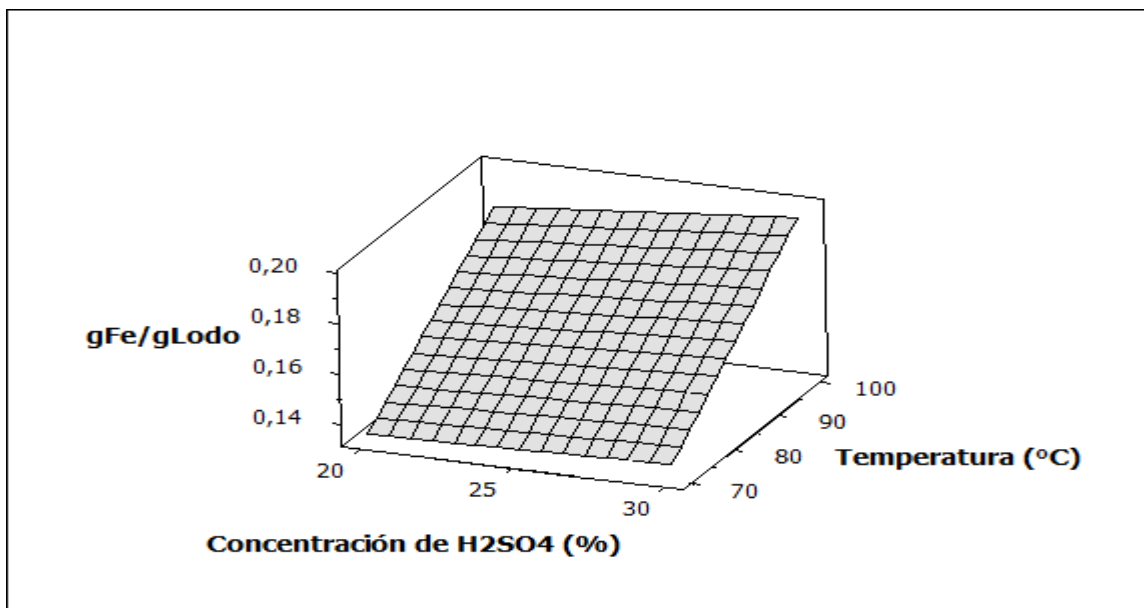


Figura 1: Superficie respuesta del modelo considerando los factores concentración de ácido – temperatura. Fuente: Elaboración propia.

Tabla 5: Coeficientes para el modelo de regresión (variables no codificadas). Fuente: López-Uscátegui (2016)

Término	Notación	Coeficiente
Constante	β_0	3.54481
A	β_1	-0.146454
B	β_2	-1.18905
C	β_3	-0.170592
D	β_4	-0.0400643
AB	β_{12}	0.0518562
AC	β_{13}	0.0069673
AD	β_{14}	0.00169032
BC	β_{23}	0.0573331
BD	β_{24}	0.0142884
CD	β_{34}	0.00199682
ABC	β_{123}	-0.00245136
ABD	β_{124}	-6.05×10^{-4}
ACD	β_{134}	-8.00×10^{-5}
BCD	β_{234}	-6.83×10^{-4}
ABCD	β_{1234}	2.86×10^{-5}

4. CONCLUSIONES

Mediante el proceso de extracción, los iones de hierro (III) se transfirieron desde la fase sólida a la fase líquida, observándose una disminución del color rojo que caracteriza al residuo generado durante la producción de alúmina. El análisis de este proceso mediante un diseño de experimentos factorial permitió establecer que la concentración de ácido sulfúrico (%v/v) y la temperatura de reacción contribuyen positivamente a la extracción del hierro presente en el lodo rojo; así como también las interacciones de segundo orden (relación sólido-líquido y temperatura de reacción), las de tercer orden (concentración de ácido, tiempo de contacto y temperatura) y de cuarto orden (concentración de ácido, tiempo de contacto, relación sólido-líquido y temperatura de reacción). Finalmente, la condición seleccionada, a partir del diseño de experimentos, como la más apropiada para realizar el proceso de extracción de hierro fue 30 %v/v de ácido sulfúrico, 3 horas de reacción, relación sólido a líquido 1/30 g/mL y una temperatura de reacción de 100 °C.

Contribución de los autores

Darwin López: investigación, recolección y análisis de datos, preparación del manuscrito.

Carlos Felipe Linares: Jefe del proyecto y revisión crítica del manuscrito.

Edith Figueredo: preparación y revisión crítica del manuscrito.

Referencias

- Agrawal, S, Rayapudi, V. & Dhawan, N (2018). Extraction of Iron values from Red mud. *Materials Today: Proceedings* 5, 17064 - 17072; doi: 10.1016/j.matpr.2018.04.113
- Borra, C. R., Blanpain, B., Pontikes, Y., Binnemans, K. & Van Gerven, T. (2016). Recovery of rare earths and other valuable metals from bauxite residue (red mud): a review. *Journal of Sustainable Metallurgy*, 2(4), 365-386.
- Centeno-Bordones, G. & Jiménez, Y. (2020). Evaluación del Lodo Rojo Activado como Catalizador Heterogéneo en Procesos de Oxidación Avanzada con Radiación Solar para la Degradación de Aguas Agrias Petroleras. *Revista Tecnología y Ciencia*, año 18(39), 62–84. <https://doi.org/10.33414/rtyc.39.62-84.2020>
- Centeno-Bordones, G., Pernía, L., Jiménez, Y. & García, J. V. (2020). Degradación de fenol e identificación por HPLC de los productos generados utilizando lodo rojo como catalizador en procesos de oxidación avanzada solar. *Revista INGENIERÍA UC*, 27(2), 150-164.
- Debadatta, D. & Pramanik, K. (2013). A study on chemical leaching of iron from red mud using sulphuric acid. *Research Journal of Chemistry and Environment*, 17(7), 50–56.

- dos Passos, K. L. M., Viegas, B. M., Macêdo, E. N., Souza, J. A. S. & Magalhães, E. M. (2015). Mathematical modeling of leaching process of red mud in order to obtain the kinetics parameters. *Revista de Engenharia Térmica*, 14(2), 90-94.
- Evans, K. (2016). The history, challenges, and new developments in the management and use of bauxite residue. *Journal of Sustainable Metallurgy*, 2(4), 316–331.
- Galarraaga, R. A., Carneiro, R. R., Keane, R. E. & Nguyen, G. (2002). CVG- bauxilum red mud neutralization. In *LIGHT METALS-WARRENDAL- PROCEEDINGS-* (pp. 133-140). TMS.
- Gutiérrez, H. & De la Vara, R. (2008). Análisis y diseño de experimentos. Editorial Mc Graw Hill.
- Jang, J., Dempsy, B. & Burgos, W. (2007). Solubility of hematite revisited: effects of hidration. *Environmental science & technology*, 41(21), 7303–7308.
- Karimi, Z., Allahverdi, A. & Mahinroosta, M. (2018). Recovery of Metals from Red Mud Using Mineral Acids. *Proceedings of Iran International Aluminium Conference (IIAC2018)* April 24–25, Tehran, I.R. Iran.
- Li, C., Zeng, C., Liu, P., Yu, J., Guo, F., Xu, G. & Zhang, Z. (2017). The recycle of red mud as excellent SCR catalyst for removal of NOx. *Rsc Advances*, 7(84), 53622–53630.
- Liu, Z., Zeng, K., Zhao, W. & Li, Y. (2009). Effect of Temperature on Iron Leaching from Bauxite Residue by Sulfuric Acid. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 82 (1), 55–58.
- López-Uscátegui, D. E. (2016). Síntesis de pigmentos de hierro a partir de los lodos rojos generados por la Industria CVG Bauxilum, CA (*Master's thesis*).
- López, D. & Linares, C. (2018). Caracterización del lodo rojo calcinado a diferentes temperaturas. *Ingeniería UC*, 25(1), 86–92.
- Lymperopoulou, T., Georgiou, P., Tsakanika, L., Hatzilyberis, K. & Ochsenkuehn-Petropoulou, M. (2019). Optimizing conditions for scandium extraction from bauxite residue using Taguchi methodology. *Minerals* 9(4), 236; doi:10.3390/min9040236
- Magalhães, E. M., Macêdo, E. N., Quaresma, D. D., Souza, J. A. & Quaresma, J. N. (2012). Extraction of Iron Oxide and Concentration of Titanium Compounds in Red Mud. In *EPD Congress 2012* (pp. 345-352). Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc
- Mayes, W. M., Burke, I. T., Gomes, I. J., Anton, Á. D., Molnár, M., Feigl, V. & Ujaczki, É. (2016). Advances in understanding environmental risks of red mud after the Ajka spill, Hungary. *Journal of Sustainable Metallurgy*, 2(4), 332–343. DOI 10.1007/s40831-016-0050-z
- Qi, Y. (2021). The neutralization and recycling of red mud—a review. In *Journal of Physics: Conference Series*, 1759(1), IOP Publishing

- Ruyters, S., Mertens, J., Vassilieva, E., Dehandschutter, B., Poffijn, A. & Smolders, E. (2011). The red mud accident in Ajka (Hungary): plant toxicity and trace metal bioavailability in red mud contaminated soil. *Environmental Science & Technology*, 45(4), 1616–1622.
- Vasters, J., Franken, G. (2020). Aluminum - Sustainable Information. Federal Institute for Geosciences and Natural Resources, BGR, Julio, 2020.
- Yang, Y., Wang, X., Wang, M., Wang, H. & Xian, P.(2015). Recovery of iron from red mud by selective leach with oxalic acid. *Hydrometallurgy*, 157, 239–245.
- Yanmei, J. (2021). Preparation of polymeric aluminum ferric sulphate from waste residue of aluminum industry. In *E3S Web of Conferences* (Vol. 271). EDP Sciences.
- Zhang, T., Wang, T., Lu, G., Liu, Y., Zhang, W. & Zhao, Q. (2018). Comprehensive Utilization of Red Mud: Current Research Status and a Possible Way Forward for Non-hazardous Treatment. *Light Metals*, In: Martin O. (eds) *Light Metals 2018*. TMS 2018. The Minerals, Metals & Materials Series, 135–141.
- Zhou K., Teng, C., Zhang, X., Peng, C. & Chen, W. (2018). Enhanced selective leaching of scandium from red mud. *Hydrometallurgy*, 182, 57–63
- Zinoveev, D., Pasechnik, L., Fedotov, M., Dyubnov, V., Grudinsky, P. & Alpatov, A. (2021). Extraction of valuable elements from red mud with a focus on using liquid media—a review. *Recycling*, 6(2), 38. <https://doi.org/10.3390/recycling6020038>

REVISIÓN, CARACTERIZACIÓN Y ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DE NUEVA DELHI METALO- β -LACTAMASA-1 (NDM-1) Y SUS VARIANTES^a

REVIEW, CHARACTERIZATION AND BIOINFORMATIC ANALYSIS OF NEW DELHI METALLO- β -LACTAMASA-1 (NDM-1) AND ITS VARIANTS

EDUVAN VALENCIA^{b*} WILSON OLARTE^{c d} MAURICIO GALVIS^{b e} FERNANDA SASTOQUE^b

Recibido 19-08-2022, aceptado 11-11-2022, versión final 28-11-2022

Artículo Revisión

RESUMEN: Tanto la enzima NDM-1, como sus variantes reportadas, presentan multirresistencia a distintos antibióticos para el tratamiento de enfermedades de tipo infeccioso. El presente trabajo muestra una revisión del mecanismo hidrolítico que sigue la enzima, un análisis bioinformático de la NDM-1 a NDM-16, algunas características genéticas, mutaciones y estudio del sitio activo. Se encontró que las 16 variantes presentan 14 mutaciones, utilizando como plantilla, la secuencia aminoacídica de NDM-1; además se establece la posibilidad de tomar estructuras de medicamentos como D-captopril para diseñar prototipos de mayor actividad y biodisponibilidad, así como baja toxicidad.

PALABRAS CLAVE: NDM-1; PDB; PsiPred; SWISS-MODEL.

ABSTRACT: Both the NDM-1 enzyme and its reported variants present multiresistance to different antibiotics for the treatment of infectious diseases. The present work shows a review of the hydrolytic mechanism followed by the enzyme, a bioinformatic analysis of NDM-1 to NDM-16, some genetic characteristics, mutations and study of the active site. It was found that the 16 variants present 14 mutations, using the amino acid sequence of NDM-1 as a template; furthermore, the possibility of taking structures from drugs such as D-captopril to design prototypes with higher activity and bioavailability, as well as low toxicity, is established.

KEYWORDS: NDM-1; PDB; PsiPred; SWISS-MODEL.

^aValencia, E., Olarte, W., Galvis, M. & Sastoque, F. (2023). Revisión, caracterización y análisis bioinformático de nueva delhi metalo- β -lactamasa-1 (ndm-1) y sus variantes. *Rev. Fac. Cienc.*, 12 (1), 59–76. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.fac.cienc.v12n1.104338>

^bSecretaría de Educación Distrital de Bogotá. Área de Ciencias Naturales

* Autor para correspondencia: edvalenciad@unal.edu.co

^cSecretaría de Educación y Cultura de Soacha.

^dUniversidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas.

^eUniversidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas.

1. INTRODUCCIÓN

El hombre se ha visto en la necesidad de acudir a la naturaleza para obtener sustancias que le permitan tratar de mejor manera las enfermedades, es por ello que la invención de medicamentos para mitigar sus dolencias se remonta a los mismos orígenes de las diversas sociedades humanas (Escalona *et al.*, 2008), debido a esto, se ha establecido una lucha continua entre la humanidad y algunos seres vivos como las bacterias en busca de la supervivencia de cada especie (Pérez, 2009). Por ejemplo, el hombre ha obtenido compuestos como los antibióticos descubiertos por primera vez por el médico escocés Alexander Fleming en 1929, con el fin de establecer estrategias de defensa que les permita sobrevivir a las enfermedades de tipo infeccioso causadas por las bacterias. Por otra parte, no es desconocido que el uso indiscriminado de antibióticos (en algunos países) para el tratamiento de una enfermedad infecciosa en personas como en animales, ha ocasionado que las bacterias en sus procesos de mutación y por consiguiente de evolución hayan creado mecanismos de resistencia, entre los cuales se encuentra con mayor frecuencia la producción de enzimas β -lactamasas que hidrolizan el anillo β -lactámico de los antibióticos de uso convencional, inhibiendo su acción como bactericida o bacteriostático (Suárez & Gudíol, 2009; Yacoby & Benhar, 2007; Cruz & Ramón, 2010; Yang *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2015).

Cuando los pacientes presentan infecciones por bacterias resistentes, se emplean antibióticos de amplio espectro como los carbapenémicos que son usados como último recurso (Ariza & León, 2013; Deshpande *et al.*, 2010), el inconveniente es que dichos fármacos han sido burlados por la aparición de enzimas del tipo carbapenemasas en los microorganismos que se especializan en la inactivación de los medicamentos ocasionando el bloqueo, por decirlo así, de su acción terapéutica (Morales-Moreno *et al.*, 2014). Algunas de las bacterias que han mostrado resistencia a la mayoría de los antibióticos por la producción de carbapenemasas adquiridas, son del tipo Gram negativas no fermentadoras como por ejemplo las publicadas por la OMS en febrero de 2017 como patógenos para ser priorizados y para los cuales se necesitan urgentemente nuevos antibióticos. Entre las bacterias se incluyen las siguientes: *Acinetobacter*, *Pseudomonas* y miembros de la familia *Enterobacteriaceae* como *Klebsiella spp*, *Serratia*, *Proteus*, *E. coli* y *Enterobacter spp*, lo cual indudablemente y como se ha venido mencionando en líneas anteriores, plantean un preocupante problema de salud pública a nivel mundial debido a su rápida diseminación y alta resistencia en el ambiente hospitalario (Queenan & Bush, 2007; Papp-Wallace *et al.*, 2011; Gonzalez *et al.*, 2015), siendo las causantes de aproximadamente 1.27 millones de muertes en 2019 asociadas con multirresistencia a los diversos antimicrobianos (Murray *et al.*, 2022). Por tal motivo, se han enfocado los esfuerzos en buscar nuevos medicamentos que burlen dichos mecanismos de defensa y que muestren un buen perfil de biodisponibilidad y toxicidad (Alcaide *et al.*, 2004; Valencia, 2014).

Uno de los primeros países en emitir una alerta sobre el incremento de cepas Gram negativas de la familia *Enterobacteriaceae* con resistencia a carbapenémicos en pacientes, fue el Reino Unido en el 2009 (Deshpande *et al.*, 2010). Varios de los pacientes habían tenido alguna experiencia de tratamientos hospita-

larios en la India y Pakistán y presentaban un nuevo tipo de M β L designada posteriormente como NDM-1 por el país donde se evidencio el primer foco de infección. Posteriormente este mecanismo también fue encontrado en Europa, Japón, Australia, Canadá y Estados Unidos, en Latinoamérica, solo hasta el año 2011 se reporta el primer caso en Guatemala, con el aislamiento de dos cepas portadoras de la NDM-1 prendiendo las alertas epidemiológicas en nuestro continente (Ariza & León, 2013). En 2012 se detectó en Colombia en *Klebsiella pneumoniae*, en Paraguay en *Acinetobacter pittii* y en Uruguay en *Providencia rettgeri*. En 2013 otros países habían reportado el hallazgo de la circulación de este mecanismo: Argentina en *P. rettgeri*, Brasil en *P. rettgeri*, Honduras en *A. baumannii*, México en *P. rettgeri*, Nicaragua en *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Enterobacter Cloacae*; y recientemente, Costa Rica en *E. Coli* (Rojas *et al.*, 2017).

De acuerdo a lo expuesto, el presente escrito pretende dar una descripción en lo que respecta a enzimas del tipo carbapenemasas M β L (metalo β -lactamasas) de tipo NDM-1, abordando apartes como el mecanismo de resistencia, algunas características genéticas, estructura y mutaciones, revisión del sitio activo, análisis bioinformático de su estructura primaria, secundaria y terciaria, entre otros. Por ejemplo, las metaloenzimas que requieren de un ion metálico divalente como el Zn^{2+} para ejercer su actividad (Ackerman & Gatti, 2013), son una amenaza latente ya que hidrolizan todos los antibióticos β -lactámicos usados terapéuticamente, con la excepción de monobactámicos como el aztreonam, y no son bloqueadas por los inhibidores de β -lactamasa del tipo serina, tales como ácido clavulánico, tazobactam, y sulbactam (Hall *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2014). De las NDM-1, se tratarán tópicos como estudio estructural, características del gen que las produce, secuencia aminoacídica, mecanismo de acción, análisis bioinformático, entre otros, que servirán como punto de referencia para distintos grupos de investigación que estén trabajando sobre este tipo de proteínas ya que tienen una gran labor puesto que éstas MBL están evolucionando rápidamente y volviéndose cada vez más eficaces y especializadas frente a diferentes antibióticos (Bebrone, 2007; Bebrone *et al.*, 2010), y además se suma el hecho de que actualmente no están disponibles inhibidores clínicamente relevantes de estas enzimas (Ackerman & Gatti, 2013).

2. ¿POR QUÉ NDM-1?

Desde su primera aparición en Asia, NDM-1 ha sido uno de los objetivos terapéuticos con más relevancia y preocupación de los diferentes grupos de investigación que abordan el tratamiento de enfermedades infecciosas. La metalobetalactamasa mencionada, ha sido un dolor de cabeza principalmente en lo que respecta a los procedimientos seguidos en los diferentes hospitales para tratar infecciones ya que cuentan con variedad de mecanismos de resistencia frente a los diversos antibióticos β -lactámicos, excepto aztreonam, colistina y tigeciclina (Gonzalez *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2014; OPS/OMS, 2014). La metaloenzima se encuentra codificada por el gen NDM-1 el cual pertenece a una gran familia codificadora de carbapenemasas que, y como se ha mencionado, los carbapenémicos son los antibióticos que se emplean como último recurso antimicrobiano, convirtiendo a éstos patógenos en un serio problema de salud (Lee *et al.*, 2001; Meini *et*

al., 2014). El gen se puede encontrar en diferentes plásmidos (un plásmido de 180 Kb de *K. pneumoniae* y un plásmido de 140 kb de *E. coli*) que se pueden transferir lateralmente con facilidad a otras cepas con una frecuencia alta (Zhang *et al.*, 2014), ocasionando un alto riesgo de pandemia mundial entre *Enterobacteriaceae* (Bebrone, 2007; Rolain *et al.*, 2010).

La propagación de NDM-1 ha planteado algunas problemáticas como: (a) la posible existencia de portadores que son asintomáticos y que aún no han sido detectados permitiendo una rápida propagación; (b) la falta de inhibidores altamente eficaces disponibles hasta la fecha; (c) la alta transferencia horizontal que existe entre las diferentes cepas bacterianas por medio de plásmidos que confieren multirresistencia (Ariza & León, 2013; Rolain *et al.*, 2010; Strynadka *et al.*, 1992), son interrogantes que sin duda alguna ponen en alerta a todos los sistemas de salud ya que el número de contactos de personas asintomáticas y la multiplicidad de zonas geográficas en riesgo y que carecen de protocolos robustos para la identificación de MBLs, podrían convertir el escenario en un problema casi imposible de tratar en un periodo de tiempo muy corto (Rolain *et al.*, 2010), en nuestro país, NDM ha sido detectada y actualmente su diseminación se ha incrementado en un número considerable de pacientes infectados de acuerdo con los datos del sistema de vigilancia del INS (instituto nacional de salud), lo que ha generado inquietud por la posibilidad de que en Colombia éste mecanismo de resistencia se vuelva de alta prevalencia, como ha ocurrido con otras carbapenemasas (Rojas *et al.*, 2017).

Es aquí donde se deben direccionar todos los esfuerzos hacia la prevención, control y detección temprana de los microorganismos que portan el gen NDM-1 con el fin de evitar que la transmisión de estos mecanismos de resistencia lleguen a niveles tan peligrosos que las infecciones no puedan ser tratadas (Ariza & León, 2013); además de seguir en el estudio y conocimiento tanto a nivel estructural como funcional de estas NDM, con el objetivo de proponer alguna alternativas de solución como lo es sin ninguna duda nuevos inhibidores con un efecto terapéutico significativo, que sean capaces de establecer un complejo acil-enzima estable parecido al que sigue el mecanismo propuesto para las serin β -lactamasas (Yang *et al.*, 2015), que presenten una alta biodisponibilidad, que no presenten toxicidad o sea mínima, serían algunos de los retos a trazarse.

3. MECANISMOS DE RESISTENCIA DE NDM-1

Con el objetivo de garantizar su permanencia en la naturaleza, los microorganismos han sorteado hábilmente los efectos de los diferentes fármacos creando resistencia a éstos. Entre los mecanismos de resistencia más comunes en bacterias Gram negativas clínicamente importantes, se encuentra la producción de enzimas denominadas β -lactamasas, y en específico aquellas metaloenzimas como NDM-1, las cuales causan la hidrólisis del anillo β -lactámico de los antibióticos produciendo un compuesto carente de actividad antimicrobiana (Ariza & León, 2013; Papp-Wallace *et al.*, 2011; Meini *et al.*, 2014; Strynadka *et al.*, 1992; Bush & Jacoby, 2010), las mutaciones en las proteínas ligadoras o de anclaje de penicilina (PBP) y porinas alte-

ran su expresión y función (Gonzalez *et al.*, 2015), las bombas de eflujo, las modificaciones que impiden o reducen la entrada del antibiótico a la bacteria (impermeabilidad) y la pérdida de proteínas de membrana externas (Deshpande *et al.*, 2010), constituyen los principales mecanismos de resistencia a los antibióticos β -lactámicos como penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos que son usados en los esquemas de tratamiento de enfermedades de tipo infeccioso a nivel nosocomial.

Específicamente para los carbapenémicos, existen dos mecanismos de resistencia que son la adquisición de genes que codifican para carbapenemasas y la reducción en la captación del antibiótico por asociación entre modificación de las porinas (por deficiencias en la calidad o cantidad) y con sobreexpresión de β -lactamasas con débil afinidad sobre carbapenémicos (Gonzalez *et al.*, 2015). Es por lo anterior que se hace necesario la detección y caracterización casi inmediata de éste tipo de enzimas ya que juegan un papel crítico en el momento de seleccionar o plantear una terapia adecuada para paliar dicha infección.

4. ALGUNAS CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS

Los genes que codifican las MBL pueden tener su origen cromosómicos o extracromosómicos (Walsh *et al.*, 2005), aunque por su rápida diseminación se les relaciona con genes ubicados en plásmidos los cuales a su vez, están asociados a estructuras genéticas móviles (secuencias de inserción, integrones y transposones) (Ovalle *et al.*, 2013), lo que convierte a las β -lactamasas en general en un claro ejemplo de la plasticidad de la genética bacteriana (Vignoli & Seija, 2006).

La propagación de los genes de MBL, se piensa, fue impulsado por el consumo regional de cefalosporinas de amplio espectro y carbapenémicos (Walsh *et al.*, 2005). La mayoría, si no todos, los genes que codifican los tipos IMP y VIM así como GIM-1 fueron encontrados como genes cassettes en integrones de clase 1, aunque los genes IMP se han encontrado en integrones de clase 3 (Walsh *et al.*, 2005). Este no es el caso del gen NDM-1, lo cual puede ser un indicio de que su origen es distinto al de otras MBL (Ariza & León, 2013).

La mayoría de los genes que codifican las MBL se encuentran ubicados en plásmidos por lo general entre 120 y 180 kb, aunque el gen blaVIM-7 se ha encontrado en plásmidos de 24kb (Walsh *et al.*, 2005), en específico el gen NDM-1 está codificado dentro de una sección de ADN de 1350 pb con un contenido de Guanina-Citosina (GC) menor (57 %) que el ADN circulante que posee entre 62 % y 65 % de GC. Corriente arriba, el gen posee 250 nucleótidos de ADN que contiene secuencias similares a las secuencias promotoras convencionales, demostrando la probabilidad de que el promotor del gen NDM-1 fuera adquirido junto con el gen (Walsh *et al.*, 2005).

El marco abierto de lectura del gen NDM-1 codifica para una proteína putativa de 269 aminoácidos con una masa molecular de aproximadamente 27.5 kDa. Este gen comparte muy pocas características con otras MBL, y con el que se relaciona más estrechamente, la VIM-1/VIM-2, solo posee un 32.4 % de identidad

(Yong *et al.*, 2009).

El gen NDM-1 se ha descrito en diferentes tipos de plásmidos (IncA/C, IncF, Inc L/M) y aunque un poco menos frecuente, está integrado al cromosoma bacteriano (Moncada, 2014). Varios de estos plásmidos se caracterizan por su capacidad de ser auto-transferibles por medio de la conjugación bacteriana, así como un amplio rango de hospederos entre especies gram negativas incluyendo *Enterobacteriaceae*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas* y *Vibrionaceae* (Moncada, 2014).

De esta manera la diseminación de este gen con otros genes de resistencia a diferentes grupos de antibióticos como macrólidos, aminoglicósidos, rifampicina, sulfamethoxazol y aztreonam se ha informado, haciendo el panorama cada vez más alarmante. A diferencia de otras enzimas como KPC y OXA-48. Los aislamientos portadores del gen blaNDM presentan altas concentraciones mínimas inhibitorias a carbapenémicos (Moncada, 2014). Varios de los factores anteriormente mencionados hacen del control de la propagación del gen NDM-1 un importante tema de salud pública ya que su diseminación puede ocurrir a gran velocidad generando un importante problema en cuanto a control de enfermedades infecciosas (Ariza & León, 2013).

5. PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES Y MUTACIONES ENCONTRADAS (NDM-1 A LA NDM-16)

Las MBL tienen dos familias representativas muy importantes, la VIM y la IMP, aunque en la actualidad la NDM hace parte relevante de este grupo por su amplia diseminación a nivel mundial. Como se ha venido mencionando, estas enzimas poseen baja homología en sus aminoácidos aproximadamente del 30 %, pero sus propiedades son similares; son transferibles, la mayoría se encuentra en genes cassetes localizados en integrones tipo 1 y en ocasiones en plásmidos y transposones (Suárez *et al.*, 2006).

Las enzimas del tipo NDM, al igual que otras MBL son proteínas globulares, que presentan una masa 100 veces mayor que su sustrato. En este sentido, una vez que el antibiótico ingresa al sitio activo, son varias las interacciones químicas que se producen entre ambas moléculas (Vignoli & Seija, 2006). Desde el punto de vista químico, son hidrolasas con clasificación E.C. 3.5.2.6, donde una comparación entre las estructuras terciarias de las tres subclases de enzimas, revela un arreglo común α β - β α tipo sandwich (Ackerman & Gatti, 2013); contiene dos subdominios, cada uno separado por una α -hoja y un par de hélices que caen hacia el exterior de cada una de ellas (Abarca & Herrera, 2001). En las enzimas del tipo B1 como la NDM, el sitio activo contiene dos iones zinc (Zn^{2+}) los cuales están coordinados por el motivo altamente conservado (His, His, His, Asp). Estos iones zinc están relacionados con la coordinación de dos moléculas de agua necesarias para la hidrólisis de su sustrato (Dortet *et al.*, 2014).

A la fecha se han reportado 16 variantes de la enzima NDM, las cuales varían en algunas mutaciones de

Tabla 1: Mutaciones encontradas en las 16 variantes de la enzima NDM. Fuente: Elaboración propia.

Metalo Betactamasa	Mutaciones	Metalo Betactamasa	Mutaciones
NDM-1	No Aplica	NDM-9	E152K
NDM-2	P28A	NDM-10	R32S, G36D, G69S, A74T
NDM-3	P28A, A99T, L221P	NDM-11	M154V
NDM-4	M154L	NDM-12	M154L, G222D
NDM-5	V88L, M154L	NDM-13	D95N, M154L, D130G
NDM-6	A233V	NDM-14	M154L, A233V
NDM-7	D130N, M154L	NDM-15	M154L, A233V
NDM-8	D130G, M154L	NDM-16	V88L, M154L, A233V

sus aminoácidos (una o máximo dos mutaciones) y en su actividad hidrolítica. Los residuos conservados del sitio activo de esta serie de MBL reportados son: H120, A121, H122, D124, H189, D192, C208, H250 (Cortés, 2011). La mutación 154 Met-Leu, en el Loop L8, que se ha informado en las variantes NDM-4, NDM-5, NDM-7, NDM-8, NDM-11, NDM-12, NDM-13, NDM-14, NDM-15 y NDM-16, se considera crítica en la función hidrolítica de la enzima ya que se podría relacionar con un incremento de su actividad en comparación con otras variantes (Dortet *et al.*, 2014). En la Tabla 1 se muestra las mutaciones de 16 variantes del gen NDM.

Se puede evidenciar por comparación con NDM-1 catorce mutaciones que ha sufrido dicho gen desde su descubrimiento, aislamiento y elucidación lo cual ya completa más de una década y en donde el panorama sigue siendo incierto debido a que en este momento y en el futuro próximo no se esperan fármacos que puedan arrojar resultados clínicos significativos para el tratamiento de infecciones producidas por bacterias que portan cualquiera de las variantes de NDM. Dichas mutaciones, en su mayoría ocasionadas por el uso inadecuado de los antibióticos, se encuentran en gran parte localizadas en las cadenas laterales de la metaloenzima (57.14%) alterando la función de expresión, que generalmente se refleja en un aumento de la actividad hidrolítica que presentan frente a dichos fármacos, además de pasar el rasgo mencionado a su descendencia, lo que dará lugar a una colonia totalmente resistente (Ariza & León, 2013; Ghafur, 2010; Cortés, 2011; Abhinav & Jaiswal, 2013; Meini *et al.*, 2014). Otro hecho que sustenta lo anteriormente mencionado, son los estudios de CMI (concentración mínima inhibitoria) en diferentes cepas de bacterias portadoras de NDM-1 a NDM-8 que han sido sometidas a diversos antibióticos como cefalosporinas (cefazidima, cefalotina y cefotaxima) y carbapenems (imipenem y meropenem), mostrando resistencia a dichas dosis y por consiguiente aumentado las CMI para los posibles tratamientos, hecho que se le ha atribuido a las mutaciones como por ejemplo M154L que se encuentra interactuando con el sitio en donde se localizan los equivalentes de metal Zinc (Meini *et al.*, 2014), de aquí la importancia de hacer un estudio detallado de las mutaciones presentes en cada una de las NMD conocidas con el fin de tener una mejor comprensión de su actividad enzimática y así poder proponer algunas estrategias *in silico*, *in vivo*, que sirvan como bases para el desarrollo de fármacos con potencial efecto clínico.

Estudios comparativos asistidos por ordenador, entre enzimas del tipo IMP-1, VIM-2 y NDM-1, ponen de manifiesto que la NDM-1 pueden tener un mayor perfil de droga y mayor eficiencia catalítica que las del tipo IMP-1 y VIM-2, debido a un "bolsillo" con mayor dimensión y una menor distancia entre los iones de Zn y el átomo de oxígeno de la betalactamasa (Dortet *et al.*, 2014).

6. SITIO ACTIVO

En cuanto a consideraciones más detalladas para la estructura del sitio activo de la enzima NDM-1, se ha reportado que se encuentra en torno a dos iones Zn^{2+} y que está rodeado por los aminoácidos His-120, His-122, Asp-124, His-189, Cys-208 y His-250. Uno de los ion zinc (Zn^{2+}) muestra coordinación tetraédrica formada por unión con los aminoácidos His-120, His-122, His-189 y uno los de los grupos hidroxilo del aminoácido Asp-124 (Bebrone, 2007; Guo *et al.*, 2011).

En cuanto al segundo catión de Zn^{2+} , se ha encontrado que forma una coordinación trigonal piramidal en la cual participa uno de los grupos hidroxilo de Asp-124 y los aminoácidos Cys-208 y His-250. En la Figura 1 se muestra una representación del sitio activo de la NDM-1, donde se resaltan la unión de los dos iones catalíticos de zinc, sus geometrías y las respectivas distancias de enlace entre estos, el solvente y los aminoácidos con los que coordina.

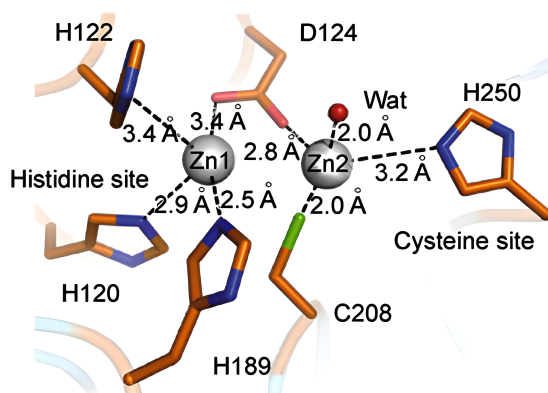


Figura 1: Vista del sitio activo de la enzima MBL NDM-1. Fuente: Guo *et al.* (2011).

Los dos iones de zinc interactúan uno con el otro a una distancia de 3.2 Å y están puenteados a su vez por el aminoácido Asp-124. Un Zn^{2+} , en los alrededores del sitio denominado "sitio cisteína", y como se puede observar en la Figura 1, una distancia de 2 Å entre el oxígeno de la molécula de disolvente y el ion Zn^{2+} , lo cual indica una unión hidróxido el cual podría servir como nucleófilo atacante en el carbono carbonilo del anillo β -lactámico (Guo *et al.*, 2011). Sin embargo, la elucidación del mecanismo de acción preciso de la NDM-1 requiere aún más investigación.

El sitio activo de la NDM-1 es una cavidad profunda que está formada por un bucle entre las regiones $\beta 5$ - $\alpha 2$ y $\beta 10$ - $\alpha 4$, en el cual se encuentran los iones zinc en la profundidad de este sitio. Esta cavidad se encuentra unida a un bucle en la región comprendida entre los aminoácidos Thr119-Met126 y Ser217-Asp225, mientras que el bucle Met67-Gly71 actúa como una especie de "puerta" para cerrar el sitio durante la unión con el sustrato y para abrirlo para la liberación del producto por medio de cambios conformacionales (Guo *et al.*, 2011).

Las MBL tipo B1 se caracterizan además por incluir un bucle en la zona N-terminal, entre los residuos 61 – 65, el cual no está presente en las enzimas subclase B2 y B3 (Guo *et al.*, 2011). Este bucle es de especial importancia en la actividad de las enzimas MBL B1 ya que estudios demuestran que esta región puede interactuar con sustratos e incluso moléculas inhibitoras que poseen cadenas laterales hidrofóbicas, forma una cavidad tipo túnel en la ranura del sitio activo y por lo tanto bloquea la molécula en el sitio activo (Bebrone, 2007; Guo *et al.*, 2011). Estudios biológicos demuestran que la eliminación de esta región bucle, afecta significativamente la actividad enzimática ya que la fuerza de unión con el sustrato se hace más débil (con excepción del Imipenem) (Guo *et al.*, 2011).

Es importante mencionar que lo profundo que puede resultar la cavidad del sitio activo en la NDM-1, provee un mayor volumen que otras enzimas relacionadas como la VIM-4, con un extraordinario pozo hidrofílico que está rodeado por los aminoácidos Trp-93, Gln-123, Asp-124 e His-250, lo que en consecuencia podría proveer más espacio para contener el ligando en el sitio activo que otras enzimas reportadas (Guo *et al.*, 2011). Como se ha demostrado en otros informes, la NDM-1 presenta alta afinidad por la mayoría de las cefalosporinas, en particular cefuroxime, cefotaxime y cefalotin y a las penicilinas lo que se considera inusual para una MBL, se podría llegar a suponer que el amplio pozo con el que cuenta el sitio activo en la NDM-1, podría contribuir a su selectividad por los antibióticos de amplio espectro.

Un estudio relacionado respecto del papel de los residuos conservados en la actividad catalítica de NDM-1, se llevó a cabo para lo cual se generaron mutaciones en N193A, S217A, G219A y T262A, cerca del sitio activo con el fin de conocer el papel de los residuos conservados en la actividad catalítica (Ali *et al.*, 2019). La afinidad y propiedades catalíticas de los mutantes fueron reducidas considerablemente por imipenem, meropenem, cefotaxime, cefoxitin, ceftazidimem, comparadas con la enzima original. Se concluyó que los residuos N193, S217, G219, y T262 juegan un papel importante en la orientación correcta del sitio activo de NDM y también participaron considerablemente en la estabilidad general de la enzima (Ali *et al.*, 2019).

Un trabajo donde se usa RMN, investiga la influencia de los iones Zn(II) en el comportamiento dinámico de NDM-1. El análisis del NDM-1 por RMN en ausencia y presencia de Zn(II), muestra que regiones específicas (los bucles ASL2, ASL3, ASL5 y L9 y la hélice $\alpha 2$) de la proteína se vieron afectadas por la unión de dos Zn(II) (Rivière *et al.*, 2020). Se realizó el ensayo de actividades inhibitoras y la caracterización

estructural de los complejos de NDM-1 con flavonoles en presencia de Zn(II), el cual evidenció que la morina, la miricetina y la quercetina interactúan en el mismo sitio de unión que los antibióticos de referencia y que estas interacciones son impulsadas en gran medida por la interacción con los dos Zn(II), como en el caso del reconocimiento de sustratos en las metalobetalactamasas (Rivière *et al.*, 2020).

7. IMPLICACIONES TERAPÉUTICAS PARA DROGAS RESISTENTES A BACTERIAS PRODUCTORAS DE NDM-1

Algunos reactivos con potencial clínico que específicamente inhiben MBL han sido introducidos clínicamente, dentro de estos se incluyen derivados tioésteres, sulfonil hidrazonas, productos naturales tricíclicos, derivados de ácido succínico, derivados de penicilinas, productos derivados de la degradación de cefalosporinas, captopril, ácido tiomandélico, derivados del ácido benzo-hidroxámico y piridina carboxilatos (Bebrone, 2007; Guo *et al.*, 2011).

De los compuestos mencionados anteriormente, el captopril es ampliamente usado en la acción enzimática y como posible inhibidor. D-captopril se ha reportado por presentar buena concentración inhibitoria (IC₅₀ de 7.9micromol/litro) de la NDM-1. Por otro lado el L-captopril, que es ampliamente usado en el tratamiento de la hipertensión, presenta una IC₅₀ de 202.0micromol/litro. Las anteriores observaciones podrían indicar que el fragmento pirrolidina del L y D captopril, es crucial para la unión a la NDM-1. Por ejemplo, una extensión del grupo carboxilo del D-captopril podría incrementar la interacción con la NDM-1, así, el nuevo compuesto podría mejorar el efecto inhibitorio de la actividad enzimática de la enzima (Guo *et al.*, 2011).

Trabajos recientes de cribado, acoplamiento molecular, dinámica molecular y alineamiento de proteínas han estudiado la inhibición de NDM-1 mediante compuestos naturales de la base de datos NPASSv1.0. En este trabajo se investiga los residuos del sitio activo y las interacciones de estos aminoácidos con los ligandos (Salari *et al.*, 2021). Se ha encontrado una energía de unión baja de -24.3 kcal/mol, incluso más baja que la informada por otros autores. En otro estudio basado en técnicas in-silico, tras un análisis comparativo con respecto a la puntuación de acoplamiento de los antibióticos clínicos estándar e inhibidores, así como análisis de simulaciones dinámica molecular para verificar la estabilidad global de los inhibidores en el sitio activo de la enzima (Rahman & Khan, 2019), se informan las evidencias necesarias para la consideración de la withaferina A, la diosgenina y el beta-sitosterol como posibles moléculas líderes para la inhibición de la NDM-1, sin embargo, se recomiendan más estudios in vitro e in vivo para establecer y confirmar la potencialidad de estas moléculas inhibitoras (Rahman & Khan, 2019).

8. REVISIÓN DE LAS PROPUESTAS DE MECANISMOS DE REACCIÓN

En cuanto a propuestas del mecanismo de hidrólisis de las MBL en general, las discusiones se han centrado en la molécula orientada de agua (ion hidróxido) identificada entre los dos iones de zinc, donde se presume que esta molécula servirá como el nucleófilo que inicia la reacción de hidrólisis (Kim *et al.*, 2013). El estudio del mecanismo ha llevado complicaciones debido a la ausencia de suficiente información respecto a estructuras de rayos X, que muestren la posición exacta del complejo enzima-sustrato. Básicamente el mecanismo de hidrólisis propuesto sugiere que el sitio activo orienta y polariza el enlace sustrato β -lactámico para facilitar el ataque nucleofílico del zinc-agua. Vale la pena aclarar que el mecanismo de hidrólisis puede variar de una MBL a otra. En la Figura 2, se muestra la reacción general de hidrólisis del meropenem.

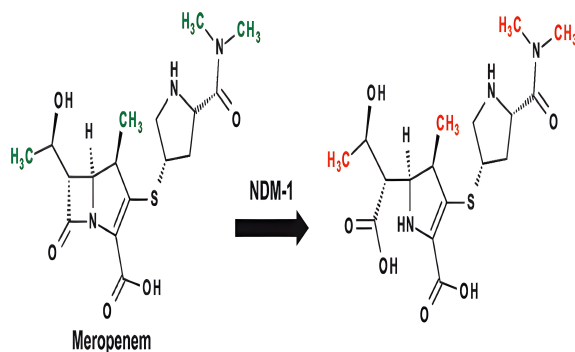


Figura 2: Hidrólisis de meropenem por la enzima NDM-1. Fuente: Ma *et al.* (2014).

Con base en estudios de dinámica y cuántica molecular, se plantea que la hidrólisis propuesta para la actividad de las MBL incluye la desprotonación de una molécula de agua en el Zn^{+2} de la segunda posición el cual actúa como ácido de Lewis que disminuye su pK, que resulta en la formación de un ion hidróxido que ataca el oxígeno carboxílico del anillo β -lactámico. Luego el enlace zinc-agua/hidróxido, se recupera por adición de otra molécula de solvente como se observa en la Figura 3.

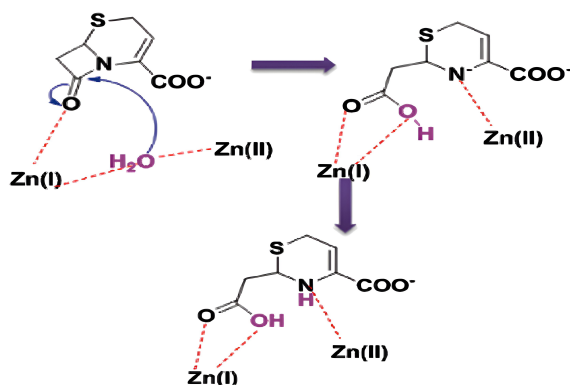


Figura 3: Propuesta de hidrólisis en forma bis-zinc de un fragmento de una cefalosporina mediado por la enzima NDM-1 de la subclase B1. Fuente: Liang *et al.* (2011)

9. ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO

La Bioinformática es de suma importancia ya que permite abordar tanto el almacenamiento como la extracción y el procesamiento conjunto de datos, además, del análisis estructural y funcional de genes y proteínas, así, como el modelado de sistemas y descubrimientos de fármacos (Pathak *et al.*, 2022). Los datos mencionados, incluyen información sobre el origen y los métodos utilizados para determinarlos; la información se recopila en bases de datos que se emplean actualmente, como por ejemplo NCBI (EEUU) para nucleótidos, PDB (Protein Data Bank) y Uniprot para proteínas (Lesk, 2019).

Con relación sobre el análisis de las diferentes variantes de NDM a partir de herramientas bioinformáticas como Uniprot, PDB, PsiPred y SWISS-MODEL, se puede establecer en cuanto a la estructura primaria que la proteína presenta una conformación monomérica con función hidrolasa constituida por 270 aminoácidos con una masa aproximada de 28,499 Da. El aminoácido más abundante es alanina con un porcentaje entre el 15 – 16 % aproximadamente y como aminoácido menos abundante se halló la cisteína encontrándose en menos del 1 % en las enzimas, de lo cual se puede inferir que la presencia de puentes disulfuro es casi nula. En cuanto a la estructura secundaria, se determinó que cerca del 50 % de los aminoácidos están presentes en los pliegues que puede adoptar la proteína y el restante se encuentra de forma casi equitativa en las α -hélice y β -hojas, en cuanto a los aminoácidos que posiblemente interaccionan con los iones metálicos divalentes, se encuentran localizados en su mayoría en los pliegues de las NDM lo que puede posibilitar una mayor tasa de mutación, hecho que se ha podido determinar mediante el examen estructural de enzimas como por ejemplo PBP a partir de bacterias resistentes que presentan mutaciones en los residuos cercanos a los motivos catalíticos (Zapun *et al.*, 2008; Gordon *et al.*, 2000). Por otra parte en cuanto a la estructura terciaria, se observó por identidad de secuencia que las metaloenzimas presentan dos equivalentes de Zn^{2+} que se encuentran interactuando con aminoácidos como H120, H122, D124, H189, C208, H250, cabe mencionar que la única cisteína que se estableció en la cadena proteica hace parte de los aminoácidos del sitio catalítico. Así pues, se evidencia la relevancia que tiene el conocer las herramientas que la tecnología nos ofrece en la

actualidad, con el fin de realizar investigaciones que no dependan de un laboratorio físico en gran porcentaje y que sean en gran medida más racionales en tiempo y recursos físicos y humanos.

10. CONSIDERACIONES FINALES

Indudablemente queda bastante por hacer en el campo de investigación de enfermedades de tipo infeccioso por NDM como se ha podido mostrar en este escrito. Algunos de los retos a corto y mediano plazo serían:

Enfocar esfuerzos direccionados a la prevención, control y detección de NDM en los diferentes sistemas de salud de cada país es crucial, debido a escenarios como la portación del gen y sus variantes por personas que no presentan ningún síntoma permitiendo su rápida propagación y la aparente facilidad de transferencia de dicho gen entre cepas, presentan un panorama preocupante a nivel de salud pública que podría ser casi imposible de tratar.

Encontrar nuevos medicamentos que burlen los diferentes mecanismos de defensa de los microorganismos que han mostrado multirresistencia a casi todos los tipos de fármacos existentes, ya que en la actualidad no hay disponibilidad de alguno con efectos clínicos relevantes. Para ello se podría plantear nuevos prototipos inhibidores como por ejemplo estructuras que presenten fragmentos de pirrolidina podrían favorecer la unión con NDM-1 como se evidencia en los fármacos L-captopril y D-captopril, así como variantes que se puedan proponer como por ejemplo la extensión en el grupo carboxilo del D-captopril logrando incrementar interacción con NDM-1 y sus variantes. Por otro lado, también se encuentran estudios de compuestos derivados del ácido tiofenocarboxílico que han mostrado actividad antibacteriana sinérgica en combinación con meropenem (Shen *et al.*, 2013); ácidos mercaptocarboxílicos también se encuentra dentro de las estructuras químicas más estudiadas como prominentes inhibidores de MBLs (Skagseth *et al.*, 2017). Otros estudios de acoplamiento ligando polarizado, usan estructuras derivadas de las cromonas las cuales mostraron amplio espectro de inhibición para carbapenemasas (Christopeit & Leiros, 2016). En los estudios de inhibición con compuestos derivados de Azoliltioacetamidas diaril sustituidas, se encontró que todas ellas presentaron inhibición de la MBL NDM-1(B3, L1), de *Stenotrophomonas maltophilia* (Zhang *et al.*, 2014). Compuestos derivados del tiol han mostrado inhibición prometedora para MBL, como por ejemplo ésteres tiol del ácido mercaptoacético (Islam, 2013). Este mismo estudio menciona otra amplia gama de estructuras químicas importantes en el estudio de inhibidores de MBLs, tales como Fenazinas, derivados del ácido tiomandélico, derivados del mercaptosulfonatos (han mostrado buenos efectos inhibitorios en la subclase B2), bifenil tetrazoles (inhibidor competitivo), derivados del ácido succínico y ftálico, derivados Hidroxamatos, derivados de piridina dicarboxilatos, triazoles y tiosemicarbazidas N-acetiladas y derivados del ácido bórico así como del EDTA.

Por otra parte, se debe aprovechar el hecho estructural de NDM-1, ya que contiene un mayor volumen de cavidad en su sitio catalítico en comparación con otras enzimas (VIM-4) lo que puede permitir el diseño de

nuevos fármacos que en alguna medida y guardando las proporciones estructurales no sean restringidos por su tamaño, además de que puedan formar complejos acil-enzima estables similares a los que se dan en el mecanismo de inhibición de las PBP, que presenten una alta biodisponibilidad, que no presenten toxicidad o sea mínima, serían algunos de los retos a perseguir.

Finalmente se debe prestar atención a la cepa *P. rettgeri*, ya que en nuestro país los reportes de infección ocasionados por este microorganismo son los más altos en lo que se refiere a diseminación según los reportes de las diferentes instituciones competentes de salud en el territorio nacional (Rojas *et al.*, 2017).

Contribución de los autores

Eduvan Valencia. y Wilson Olarte: Supervisión y conceptualización. Eduvan Valencia, Wilson Olarte, Mauricio Galvis y Luisa Sastoque: revisión y escritura.

Referencias

- Abarca, G., & Herrera, M. L. (2001). Betalactamasas: su importancia en la clínica y su detección en el laboratorio. *Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera*, 36, 77–104.
- Abhinav, K. & Jaiswal, A. (2013). NDM-1-New Delhi Metallo beta Lactamase: A Review. *Angewandten Biologie Forschung*, 1, 1.
- Ackerman, S. H., & Gatti, D. L. (2013). Biapenem inactivation by B2 metallo β -lactamases: energy landscape of the hydrolysis reaction. *PloS one*, 8, e55136.
- Alcaide, B., de Murga, R. M., Pardo, C. & Rodríguez-Ranera, C. (2004). Access to enantiopure polycyclic β -lactams by Diels-Alder reaction of novel inner-outer-ring 2-(silyloxy) dienes with a carbacepham skeleton. *Tetrahedron letters*, 45, 7255–7259.
- Ali, A., Kumar, R., Iquebal, M. A., Jaiswal, S., Kumar, D. & Khan, A. U. (2019). Role of conserved residues in catalytic activity of NDM-1: an approach of site directed mutagenesis and molecular dynamics.
- Ariza, B. & León, A. (2013). Carbapenemasa Nueva Delhi tipo 1 (NDM): Descripción fenotípica, epidemiológica y tratamiento. *Laboratorio Actual*, 44.
- Bebrone, C. (2007). Metallo- β -lactamases (classification, activity, genetic organization, structure, zinc coordination) and their superfamily. *Pharmacology*, 74, 1686–1701.
- Bebrone, C., Lassaux, P., Vercheval, L., Sohier, J. S., Jehaes, A., Sauvage, E. & Galleni, M. (2010). Current challenges in antimicrobial chemotherapy. *Drugs*, 70, 651–679.

- Bush, K. & Jacoby, G. (2010). Updated functional classification of β lactamases. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54, 969–976.
- Christopeit, T. & Leiros, H. K. S. (2016). Fragment-based discovery of inhibitor scaffolds targeting the metallo- β -lactamases NDM-1 and VIM-2. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 26, 1973–1977.
- Cortés, J. (2011). Resistencia en enterobacterias: evolución, enzimas y ambiente. *Infectio*, 15, 145–146.
- Cruz, E., & Ramón, G. (2010). Modelación molecular de antibióticos betalactámicos. *Medisur*, 8, 13–19.
- Deshpande, P., Rodrigues, C., Shetty, A., Kapadia, F., Hedge, A. & Soman, R. (2010). New Delhi Metallo-beta lactamase (NDM-1) in Enterobacteriaceae: treatment options with carbapenems compromised. *The Journal of the Association of Physicians of India*, 58, 147–149.
- Dortet, L., Poirel, L. & Nordmann, P. (2014). Worldwide dissemination of the NDM-type carbapenemases in Gram-negative bacteria. *BioMed research international*, 2014.
- Escalona, J., Carrasco, R. & Padrón, J.(2008). Introducción al diseño racional de fármacos. Ciudad de La Habana. Editorial Universitaria. Ministerio de Educación Superior. 45p.
- Ghafur, A. (2010). An obituary-on the death of antibiotics!. *The Journal of the Association of Physicians of India*, 58, 143-144.
- Gonzalez et al., (2015). Caracterización fenotípica y genotípica de perfiles de resistencia antimicrobiana de aislamientos bacterianos recuperados en Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS) septiembre 2012 - diciembre 2014. [En línea]. Instituto nacional de salud, Bogotá, Colombia. [Consultado en agosto de 2022]. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscar/Informacin%20de%20laboratorio/Informe%20Vigilancia%20por%20Laboratorio%20Resistencia%20Antimicrobiana%20IAAS%202012-2014.pdf>
- Gordon, E., Mouz, N., Duee, E. & Dideberg, O. (2000). The crystal structure of the penicillin-binding protein 2x from Streptococcus pneumoniae and its acyl-enzyme form: implication in drug resistance. *Journal of molecular biology*, 299, 477–485.
- Guo, Y., Wang, J., Niu, G., Shui, W., Sun, Y., Zhou, H., ... & Rao, Z. (2011). A structural view of the antibiotic degradation enzyme NDM-1 from a superbug. *Protein & cell*, 2, 384–394.
- Hall, B. G., Salipante, S. J. & Barlow, M. (2003). The metallo- β -lactamases fall into two distinct phylogenetic groups. *Journal of molecular evolution*, 57, 249–254.
- Islam, N. U. (2013). An update on the status of potent inhibitors of metallo- β -lactamases. *Scientia pharmaceutica*, 81, 309-328.

- Kim, Y., Cunningham, M. A., Mire, J., Tesar, C., Sacchettini, J. & Joachimiak, A. (2013). NDM-1, the ultimate promiscuous enzyme: substrate recognition and catalytic mechanism. *The FASEB Journal*, 27, 1917-1927.
- Lee, N. L., Yuen, K. Y. & Kumana, C. R. (2001). β -Lactam antibiotic and β -lactamase inhibitor combinations. *Jama*, 285, 386-388.
- Lesk, A. (2019). Introduction to bioinformatics. Oxford university press.
- Liang, Z., Li, L., Wang, Y., Chen, L., Kong, X., Hong, Y., ..., & Jiang, H. (2011). Molecular basis of NDM-1, a new antibiotic resistance determinant. *PLoS One*, 8, e23606.
- Liu, X. L., Shi, Y., Kang, J. S., Oelschlaeger, P. & Yang, K. W. (2015). Amino acid thioester derivatives: a highly promising scaffold for the development of metallo- β -lactamase L1 inhibitors. *ACS medicinal chemistry letters*, 6, 660-664.
- Ma, J., McLeod, S., MacCormack, K., Sriram, S., Gao, N., Breeze, A. L., & Hu, J. (2014). Real-Time Monitoring of New Delhi Metallo- β -Lactamase Activity in Living Bacterial Cells by ^1H NMR Spectroscopy. *Angewandte Chemie International Edition*, 8, 2130-2133.
- Meini, M. R., Llarull, L. I. & Vila, A. J. (2014). Evolution of metallo- β -lactamases: *trends revealed by natural diversity and in vitro evolution*. *Antibiotics*, 3, 285-316.
- Moncada, M. (2014). Caracterización molecular de aislamientos de klebsiella pneumoniae portadores del genbla NDM-1 procedentes de una unidad neonatal en un hospital de Bogotá. *Posgrado Interfacultades en Microbiología*.
- Morales-Moreno, Y., Medina-Marrero, R., Garcia-Bernal, M., Casanova-González, M., Rodríguez-Pérez, R., Fernández-López, N., ... & Rojas-Hernández, N. (2014). Actividad in vitro de furvina frente a bacterias Gram negativas multirresistentes. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 45, 052-057.
- Murray, C. J., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Aguilar, G. R., Gray, A., ..., & Naghavi, M. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, 399, 629-655.
- OPS/OMS. (2014). Actualización Epidemiológica. Carbapenemasas tipo New Delhi metalobetalactamasas (NDM). [En línea]. [Consultado en agosto de 2022]. Disponible en <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2014/2014-mar-07-cha-carbapenemasas-actualizacion-epi.pdf>
- Ovalle M. et al. (2013). Vigilancia epidemiológica comunitaria en las entidades territoriales departamentales y distritales, Colombia, 2012, *IQEN*, 18, 111-120.

- Papp-Wallace, K. M., Endimiani, A., Taracila, M. A. & Bonomo, R. A. (2011). Carbapenems: past, present, and future. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 55, 4943–4960.
- Pathak, R. K., Singh, D. B. & Singh, R. (2022). Introduction to basics of bioinformatics. In *Bioinformatics* (pp. 1–15). Academic Press.
- Pérez, M. (2009). Uso de técnicas separativas miniaturizadas como alternativa a la determinación de antibióticos beta-lactámicos en fármacos, aguas y alimentos.
- Queenan, A. & Bush, K. (2007). Carbapenemases: the versatile β -lactamases. *Clinical microbiology reviews*, 20, 440–458.
- Rahman, M., & Khan, M. K. A. (2019). In silico based unraveling of New Delhi metallo- β -lactamase (NDM-1) inhibitors from natural compounds: a molecular docking and molecular dynamics simulation study. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*.
- Rivière, G., Oueslati, S., Gayral, M., Créchet, J. B., Nhiri, N., Jacquet, E., ... & Morellet, N. (2020). NMR Characterization of the Influence of Zinc (II) Ions on the Structural and Dynamic Behavior of the New Delhi Metallo-Lactamase-1 and on the Binding with Flavonols as Inhibitors. *omega*, 5, 10466-10480.
- Rojas, S. Y. S., Duarte, C., de Arias, M. N. G. & Ovalle, M. V. (2017). Emergencia de Providencia rettgeri NDM-1 en dos departamentos de Colombia, 2012-2013. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 35, 358–358.
- Rolain, J. M., Parola, P., & Cornaglia, G. (2010). New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM-1): towards a new pandemia? *Clinical Microbiology and Infection*, 16, 1699–1701.
- Salari-Jazi, A., Mahnam, K., Sadeghi, P., Damavandi, M. S., & Faghri, J. (2021). Discovery of potential inhibitors against New Delhi metallo-lactamase-1 from natural compounds: *In silico-based methods*. *Scientific reports*, 11, 1–20.
- Shen, B., Yu, Y., Chen, H., Cao, X., Lao, X., Fang, Y., ... & Zheng, H. (2013). Inhibitor discovery of full-length New Delhi metallo- β -lactamase-1 (NDM-1). *PloS one*, 8, e62955.
- Skagseth, S., Akhter, S., Paulsen, M. H., Muhammad, Z., Lauksund, S., Samuelsen, Ø., ... & Bayer, A. (2017). Metallo- β -lactamase inhibitors by bioisosteric replacement: Preparation, activity and binding. *European journal of medicinal chemistry*, 135, 159–173.
- Strynadka, N. C., Adachi, H., Jensen, S. E., Johns, K., Sielecki, A., Betzel, C., ... & James, M. N. (1992). Molecular structure of the acyl-enzyme intermediate in β -lactam hydrolysis at 1.7 Å resolution. *Nature*, 359, 700–705.
- Suárez, C. & Gudiol, F. (2009). Antibióticos betalactámicos. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 27, 116-129.

- Suárez, C. J., Kattán, J. N., GUZMÁN, A., & Villegas, M. V. (2006). Mecanismos de resistencia a carbapenems en *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* y *Enterobacteriaceae* y estrategias para su prevención y control. *Infectio*, 10, 85-93.
- Valencia, E. (2014). Diseño racional de compuestos espirothiazolidónicos, pirazolotiazolidónicos y pirazolo β -lactámicos con potencial actividad antimicrobiana. Departamento de Química.
- Vignoli, R. & Seija, V. (2006). Principales mecanismos de resistencia antibiótica. Temas de bacteriología y Virología. *Instituto de Higiene*, 649–662.
- Walsh, T. R., Toleman, M. A., Poirel, L. & Nordmann, P. (2005). Metallo- β -lactamases: the quiet before the storm?. *Clinical microbiology reviews*, 18, 306–325.
- Yacoby, I. & Benhar, I. (2007). Targeted anti bacterial therapy. *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)*, 7, 221–229.
- Yang, S. K., Kang, J. S., Oelschlaeger, P., & Yang, K. W. (2015). Azolylthioacetamide: a highly promising scaffold for the development of metallo- β -lactamase inhibitors. *ACS medicinal chemistry letters*, 6, 455–460.
- Yong, D., Toleman, M. A., Giske, C. G., Cho, H. S., Sundman, K., Lee, K. & Walsh, T. R. (2009). Characterization of a new metallo- β -lactamase gene, bla NDM-1, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 53, 5046–5054.
- Zapun, A., Contreras-Martel, C. & Vernet, T. (2008). Penicillin-binding proteins and β -lactam resistance. *FEMS microbiology reviews*, 32, 361–385.
- Zhang, Y. L., Yang, K. W., Zhou, Y. J., LaCuran, A. E., Oelschlaeger, P. & Crowder, M. W. (2014). Diaryl-substituted azolylthioacetamides: inhibitor discovery of New Delhi Metallo- β -Lactamase-1 (NDM-1). *ChemMedChem*, 9, 2445–2448.

EL SISTEMA NERVIOSO, UNA VÍCTIMA MÁS DEL SARS-COV-2^a

THE NERVOUS SYSTEM, ANOTHER VICTIM OF SARS-COV-2

PAULINA LEÓN SÁNCHEZ^b, ENOCH LUIS^{b c*}

Recibido 31-05-2022, aceptado 28-09-2022, versión final 05-12-2022

Artículo Revisión

RESUMEN: El COVID-19 es la enfermedad provocada por el SARS-CoV-2, el virus que desencadenó la instauración de medidas preventivas de confinamiento desde principios de 2020. En un inicio, se identificó a la proteína S del virus como la “llave” que, dada su gran afinidad por el receptor ACE2, promueve la entrada al cuerpo humano. ACE2 se encuentra expresado en diferentes tejidos, y por lo tanto, son más propensos a presentar alteraciones al estar expuestos al virus. En el encéfalo encontramos dos regiones con ACE2 altamente expresado: 1) el bulbo olfatorio, razón por la cual se sugiere que esto puede facilitar la entrada del virus hacia el SNC, e incluso se considera que explica la pérdida de olfato y 2) el tallo cerebral, que resulta de especial importancia porque el complejo Pre-Bötzinger se sitúa embebido en dicha estructura y regula el ritmo respiratorio mediante la coordinación de quimiorreceptores que sensan la saturación de O_2 y CO_2 , lo que da paso a un decremento en el suministro de oxígeno. Además, parte de las alteraciones en el SNP se piensa que se generan a partir de la interacción del virus con los nociceptores dando paso a síntomas como dolor muscular y de cabeza.

PALABRAS CLAVE: SARS-CoV-2; ACE2; cerebro; nociceptores; bulbo olfatorio.

ABSTRACT: COVID-19 is the name of sickness headed by SARS-CoV-2, which gated the confinement restrictions since March 2020. At the beginning the S protein was identified as the “key” that enhances entering human body, due to its affinity with ACE2 receptor. ACE2 receptor is known to be expressed in a variety of tissues in a manner in which that location increases their infection-probabilities in exposure to this virus. The brain contains two regions where ACE2 is mainly expressed: 1) The olfactory bulb which is thought to be involved in loss of smell and facilitating entering to the Central Nervous System, on the other hand 2) the brainstem keeps imbibed the Pre-Bötzinger complex, a mediator of respiratory rhythm, showed its implications in oxygen depletion because of abnormal working of O_2 , and CO_2 sensing chemoreceptors. In concern with PNS it is considered virus-nociceptors interaction as the most likely reason to muscular pain and headache.

KEYWORDS: SARS-CoV-2; ACE2; brain; nociceptors; olfactory bulb.

^aLeón-Sánchez, P. & Luis, E. (2023). El sistema nervioso, una víctima más del SARS-CoV-2. *Rev. Fac. Cienc.*, 12 (1), 77–84. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.fac.cienc.v12n1.102953>

^bLaboratorio Nacional de Canalopatías, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito Exterior s/n, C.U., Ciudad de México 04510, México

^cCátedras CONACYT - Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito Exterior s/n, C.U., Ciudad de México 04510, México

* Autor para correspondencia: enoch@ifc.unam.mx

1. INTRODUCCIÓN

Han transcurrido más de dos años desde que la pandemia causada por el COVID-19 nos mantuvo en confinamiento a nivel mundial. A la fecha se ha publicado una descomunal cantidad de estudios intentando descifrar los mecanismos de acción del virus causante de esta enfermedad, el SARS-CoV-2 (por sus siglas en inglés *severe acute respiratory syndrome*); sin embargo, aún queda una infinidad de preguntas por resolver, por lo que existe un fuerte interés en cuanto a los factores causantes de los síntomas comunes durante y posteriores al desarrollo de la enfermedad, especialmente aquellos que causan alteraciones en el Sistema Nervioso Central (SNC).

Al igual que otros coronavirus, la infección primaria del SARS-CoV-2 afecta el tracto respiratorio, causando ya sea una infección asintomática o bien, una variedad de síntomas que incluyen tos, fiebre, neumonía, falla respiratoria, y parte de los síntomas que indican alteraciones a nivel neurológico son dolor de cabeza, confusión, depresión, desórdenes sensoriales y neuromusculares, entre otros (Spudich & Avindra, 2022). De acuerdo con los datos presentados por la Organización Mundial de la Salud, hasta finales de mayo del 2022 el virus había contagiado a más de 527 millones de personas y producido la muerte de aproximadamente 6.2 millones en todo el mundo (World Health Organization COVID-19 Explorer, 2020).

Pero antes de profundizar más en este tema, se puntualizan las particularidades que se conocen hasta ahora de este agente patógeno. Se sabe que se trata de un virus cuyo material genético se compone de RNA (por sus siglas en inglés *ribonucleic acid*), es decir, material genético de cadena sencilla con una extensión aproximada de 26 – 35 Kilobases (Kb), y codifica para cuatro proteínas estructurales: la proteína E (por *envelope* en inglés), la proteína M (por *membrane* en inglés), la proteína S (llamada así por *Spike protein* en inglés que a su vez hace referencia a su forma de espícula) y la proteína formadora de la nucleocápside (N).

Es conveniente recordar a la proteína S como el caballo de Troya que dará inicio al ataque porque además de ser la responsable de la estructura en forma de “corona” del virus (Esakandari *et al.*, 2020), en diversos estudios se ha comprobado que actúa como una “llave maestra” que le permite tomar el control de la maquinaria celular de sus víctimas, o bien del hospedero (Baig *et al.*, 2020; McFarland *et al.*, 2021; Shiers *et al.*, 2020). Esto se debe a que está conformada por dos subunidades: la S1 que presenta mayor afinidad al receptor ACE2 (por sus siglas en inglés *Angiotensin-converting enzyme*) y la S2 que auxilia la formación de una invaginación en la membrana celular tras la unión del virus a los receptores ACE2 y es ahí cuando la misma tensión de la invaginación endocita la molécula vírica. En el proceso, se fusionan ambas membranas de manera que le es permitido el paso al material genético vírico y consecuentemente inicia la replicación de este (Sawa & Akaike, 2022).

En pocas palabras, la proteína S se logra “camuflar” entre una de las proteínas que el cuerpo humano expresa en condiciones normales de modo que actúa tal como si se tratase de la Angiotensina 2 y logra “burlar” el

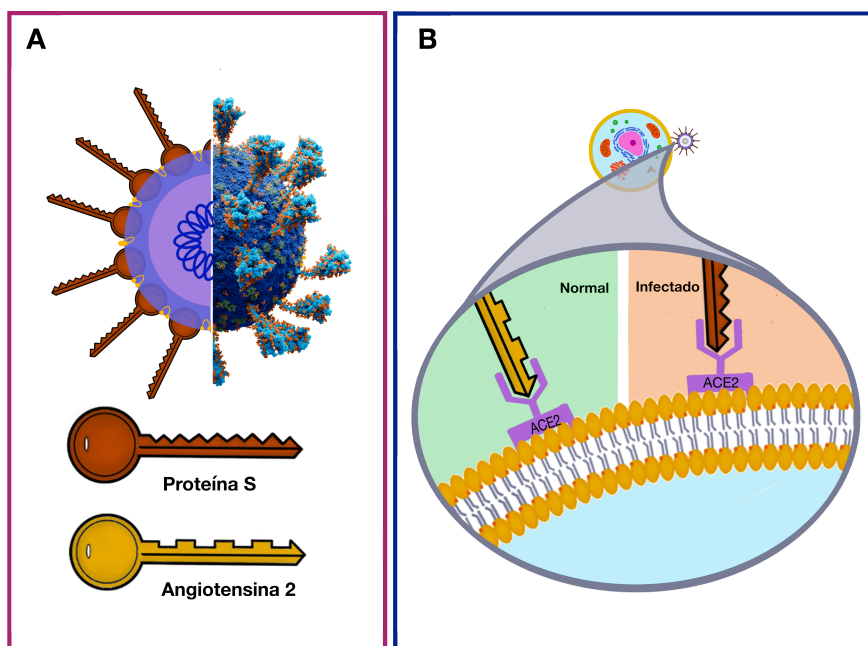


Figura 1: Esquema del SARS-CoV-2 y su interacción con las células del organismo huésped. En A, se representa cuan parecida puede ser la proteína S a la Angiotensina 2, lo que convierte a la primera en una llave maestra que permite al virus interactuar e ingresar a las células huésped. En B, esquema donde se muestra que la proteína S engaña a las células huésped al unirse directamente con el receptor ACE2. Fuente: Elaboración propia.

sistema al orillar a los receptores ACE2, que detectan la presencia de ésta, a unir su cerradura equívocamente con la “llave maestra” (Figura 1A). Lo que las células “no saben” es que este engaño es el presagio de una guerra, puesto que es así como consigue instalarse e invadir el interior de las células para comenzar a formar un ejército de SARS-CoV-2.

2. ¿CÓMO INVADE EL SARS-COV-2 AL SNC?

El SNC es aquel que controla y regula una infinidad de funciones, que a su vez involucran la integración y coordinación de funciones sistémicas, por lo que cada uno de los componentes que lo conforman debe estar propiamente resguardado y protegido de agentes que puedan intervenir en el cumplimiento de sus funciones. Por esa razón, existe una barrera que separa parcialmente el flujo sanguíneo del tejido nervioso. A esta barrera se le conoce como *Barrera Hematoencefálica* y presenta una conformación bien estructurada a tal grado que es capaz de frenar el avance de numerosas toxinas, bacterias y agentes víricos e incluso otras sustancias como medicamentos de libre circulación en el cuerpo; pero además, permite el paso selectivo de moléculas esenciales hacia el cerebro para llevar a cabo diferentes procesos homeostáticos. Se compone de cuatro tipos celulares: células endoteliales, pericitos, astrocitos –llamados así por su forma de estrella– y neuronas (Barichello *et al.*, 2019), (Figura 2).

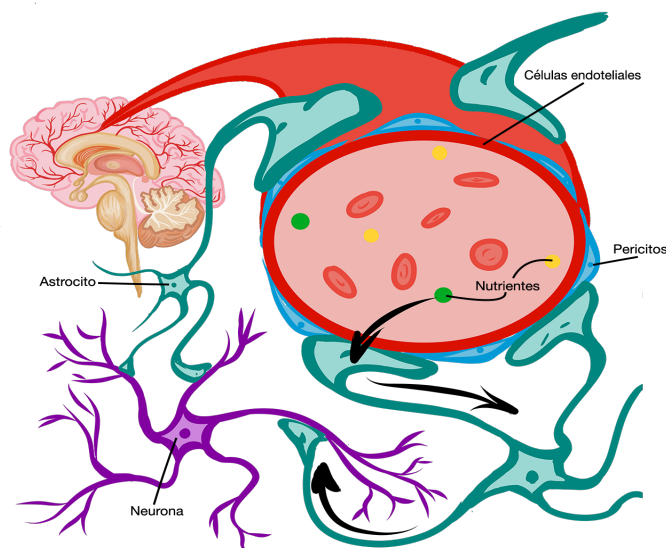


Figura 2: Disposición y composición de la barrera hematoencefálica, como se puede apreciar está compuesta por tipos celulares que contempla células endoteliales, pericitos, astrocitos y neuronas. Ilustración basada en Barichello et al. (2019). Fuente: Elaboración propia.

Pese a la complejidad de esta barrera, sorpresivamente se ha sugerido que ésta no basta para frenar la ruta invasiva del SARS-CoV-2 hacia el cerebro, ya que hasta el momento, se han propuesto diferentes mecanismos en los que el virus puede afectar a este órgano: en primera instancia, se piensa que la sobreexpresión de ACE2 en células del epitelio olfativo significa un atajo hacia el cerebro y de ahí puede dar inicio a la colonización hacia los tejidos que expresan el receptor blanco; en lo que respecta a la participación de la barrera hematoencefálica, se ha observado que su permeabilidad selectiva se ve alterada como resultado de procesos inflamatorios lo que a su vez, permite la entrada de agentes proinflamatorios que eventualmente pueden desencadenar un daño en el tejido neuronal. Además, parte de los componentes celulares de la barrera hematoencefálica (astrocitos, pericitos y algunas células endoteliales) expresan el receptor ACE2 (Alomari *et al.*, 2020; Hernandez *et al.*, 2021) lo que facilita la instalación del virus en esta zona.

Otros de los mecanismos que preocupan y que pueden ser los desencadenantes de manifestaciones clínicas que nos remiten a daños neuronales son aquellos que amenazan el suministro de O_2 al cerebro. Hasta el momento se han encontrado dos por lo que es conveniente abordarlos desde puntos de vista separados: por un lado, es sabido que uno de los síntomas característicos de la enfermedad es la inflamación en el tejido pulmonar y dada la liberación de tormentas de citoquinas, los alvéolos pueden llegar a colapsar y quedar inhabilitados para el intercambio gaseoso. Por otra parte, preocupa el hecho de que el receptor ACE2 se exprese en el complejo pre-Bötzinger que se localiza en el tallo cerebral y se encarga de coordinar el ritmo respiratorio, de tal forma que regula la periodicidad de los movimientos musculares que permiten la entrada

y correcta circulación del aire en función de la información que reciba de los quimiorreceptores sensibles a las concentraciones de O_2 y CO_2 circulantes en el torrente sanguíneo. De manera que al verse afectada la coordinación entre la ritmicidad respiratoria y la demanda de O_2 , es inevitable presentar una condición hipóxica, definida por una saturación de O_2 en sangre por debajo de 90% (Hernandez *et al.*, 2021; Hill *et al.*, 2012).

En lo que respecta a los síntomas asociados con funciones de cognición, en numerosos estudios se han percatado de que las personas con COVID-19 persistente, tienden a desarrollar problemas en la memoria de trabajo, dificultad para encontrar palabras al hablar, complicaciones para concentrarse que pueden derivar en confusión o neblina cerebral, entre otros (Bliddal *et al.*, 2021; Graham *et al.*, 2021). Es probable que parte de estos síntomas se desarrollen como consecuencia de la degradación de los recubrimientos de mielina, que según lo que señala Shabani (2021) se da como consecuencia de factores inflamatorios.

3. ¿Y QUÉ SUCEDE CON EL SISTEMA NERVIOSO PERIFÉRICO (SNP)?

Es bien sabido que muchos tipos de virus pueden interactuar directamente con diversos tipos de neuronas sensoriales, ejemplos de estos pueden ser el virus de la rabia y el virus del herpes. Además, es conocido que muchas infecciones por patógenos tienden a producir dolor. Esto ha llevado a estudiar las interacciones de diversas bacterias y virus con los nociceptores, las neuronas sensoriales encargadas de responder a estímulos nocivos. Algunos autores sugieren que el SARS-CoV-2 puede interactuar con algunas poblaciones de nociceptores y que dicha interacción podría ser la causa de los síntomas característicos de la enfermedad tales como dolor de cabeza o dolor muscular. Shiers *et al.* (2020) identificaron a nivel de ARNm y proteína que existe una subpoblación de neuronas sensoriales que expresan el receptor ACE2, dichas neuronas además expresaban el gen del péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CALCA), el gen del receptor purinérgico tipo 3 (P2RX3) y el gen del canal de sodio dependiente de voltaje 1.8 (SCN10A), lo que define a estas neuronas como nociceptores (Shiers *et al.*, 2020), por lo que podrían ser la puerta de entrada del SARS-CoV-2 al SNP. Además, existen ciertas estrategias de propagación en las que los nociceptores se ven involucrados en episodios severos de la enfermedad (Graham *et al.*, 2021; McFarland *et al.*, 2021).

4. DOLOR Y DEBILIDAD MUSCULAR DURANTE COVID-19 ¿EL SARS-COV-2 ES EL CULPABLE?

Se ha sugerido que tanto el dolor como la debilidad muscular pueden estar relacionados con la liberación de Interferones tipo I (Int-I), que son proteínas “de combate” que mandan las órdenes de ataque contra agentes patógenos, en su mayoría de tipo viral. En un inicio se pensaba que el carácter de Int-I tenía un efecto directo sobre la funcionalidad de los nociceptores; no obstante, más tarde se encontró que interactúan entre

sí mediante “soldados de bajo rango” –MNK1/2 (*Mitogen activated protein kinase interacting*)– que actúan como intermediarios entre Int-I y nociceptores. De manera que, si los Int-1 mandan un ataque, los MNK1/2 estimulan a los nociceptores llevándolos a un estado excitado ocasionando dolor de cabeza, cuerpo cortado y dolor en articulaciones (Khan *et al.*, 2021).

Sin embargo, también se ha observado que este virus presenta proteínas accesorias –nsp6, nsp13, ORF3B, ORF6– que funcionan como bloqueadores que entorpecen el combate al impedir la liberación de los Int-1 y ante este enfrentamiento, piden refuerzos y llaman al combate a las tropas de citoquinas que, en numerosas ocasiones son las responsables de la generación de una respuesta hiperinflamatoria, lo que podría derivar en un estado crítico de la enfermedad (McFarland *et al.*, 2021). También existe una segunda proteína de combate que coordina las batallas en el tejido muscular, a ésta se le conoce como Interleucina de tipo 6 y tal como sucede con Int-I, la Interleucina de tipo 6 desencadena la excitación de los nociceptores lo que se traduce en dolor muscular y coincide con ser uno de los síntomas que anuncia posibles complicaciones de la enfermedad (Ali *et al.*, 2021; McFarland *et al.*, 2021).

Un aspecto que ha adquirido mayor importancia es la presencia de debilidad muscular y se sospecha que al igual que otros coronavirus, el SARS-CoV-2 provoca una oleada de moléculas proinflamatorias que desencadenan la degradación de las láminas de mielina, que son recubrimientos generados por oligodendrocitos (en SNC) o por células de Schwann (en SNP) que facilitan la conductividad de la corriente eléctrica. Por este motivo es sabido que, de no estar este recubrimiento en buen estado, los axones de las neuronas que llevan las órdenes a los miocitos (células musculares) son propensos a presentar fugas de energía de manera análoga en la que un cable pelado conduce poca o deficiente corriente eléctrica generando una respuesta defectuosa que muy probablemente se puede traducir en debilidad muscular (McFarland *et al.*, 2021).

5. CONCLUSIONES

Ahora que se tiene un panorama más amplio de algunas de las tácticas de ataque del SARS-CoV-2 al sistema nervioso y cómo estos pueden afectar en procesos de neurorrecepción, cognitivos, homeostáticos, entre otros, es pertinente mencionar que, pese a que se está trabajando a un ritmo acelerado en fármacos y vacunas para combatir y tratar el COVID-19, resulta de especial importancia atender las medidas de distanciamiento, el uso de cubrebocas así como la promoción de la vacunación, ya que lo mencionado en el presente escrito es sólo una muestra de lo que se conoce hasta el momento; sin embargo, las observaciones clínicas continúan arrojando nuevos síntomas y secuelas derivados de la enfermedad, incluso se sospecha que las personas que han contraído la enfermedad pueden adquirir mayor vulnerabilidad a desarrollar enfermedades neurodegenerativas como Parkinson o Alzheimer (Spudich & Avindra, 2022), pero aún existe un panorama incierto al respecto al considerar el amplio repertorio de síntomas asociado a las diferentes variantes.

Así mismo, conviene hacer hincapié en que la comprensión de las estrategias de infección del SARS-CoV-2 demanda un enfoque integral que requiere atención en diferentes factores de riesgo a nivel poblacional en función de condiciones ambientales, genéticas e incluso, socioeconómicas.

Contribución de los autores

Paulina León Sánchez realizó las figuras. Ambos autores escribieron y revisaron el manuscrito. Enoch Luis hizo la conceptualización del manuscrito.

Referencias

- Ali, A.M. & Kunugi, H. (2021). Skeletal Muscle Damage in COVID-19: A Call for Action. *Medicina* 57(4), 372. <https://doi.org/10.3390/medicina57040372>
- Alomari, S.O., Abou-Mrad, Z. & Bydon, A. (2020). COVID-19 and the central nervous system. *Clinical neurology and neurosurgery*, 198, 106116.
- Baig, A.M., Khaleeq, A., Ali, U. & Syeda, H. (2020). Evidence of the COVID-19 Virus Targeting the CNS: Tissue Distribution, Host-Virus Interaction, and Proposed Neurotropic Mechanisms. *ACS Chemical Neuroscience* 11(7), 995–998.
- Barichello, T., Collodel, A., Hasbun, R., & Morales, R. (2019). An Overview of the Blood- Brain Barrier. Eds. Blood-Brain Barrier. *Neuromethods*, 142. Humana Press, New York, NY., 1–8.
- Bliddal, S., Banasik, K., Pedersen, O.B., Nissen, I., Cantwell, L., Schwinn, M., Tulstrup, M., Westergaard, D., Ullum, H., Brunak, S., Tommerup, N., Feenstra, B., Geller, F., Ostrowski, S. R., Grønbæk, K., Nielsen, C.H., Nielsen, S.D. & Feldt-Rasmussen, U. (2021), Acute and persistent symptoms in non-hospitalized PCR-confirmed COVID- 19 patients. *Scientific Reports* 11, 13153.
- Esakandari, H., Nabi-afjadi, M., Fakkari-afjadi, J., Farahmandian, N., Miresmaeili, S. & Bahreini, E. (2020), A comprehensive review of COVID-19 characteristics. *Biological procedures online* 22(1), 1–10.
- Graham, E.L., Clark, J.R., Orban, Z.S., Lim, P.H., Szymanski, A.L., Taylor, C., Dibiase, R. M., Tong Jia, D., Balabanov, R., Ho, S.U., Batra, A., Liotta, E.M. & Korolnik, I. J. (2021). Persistent neurologic symptoms and cognitive dysfunction in non- hospitalized Covid-19 “long haulers”. *Annals of Clinical and Translational Neurology*, 8(5), 1073–1085.
- Hernandez, V. S., Zetter, M. A., Guerra, E. C., Hernandez-Araiza, I., Karuzin, N., Hernandez-Perez, O.R., Eiden, L. E. & Zhang, L. (2021). ACE2 expression in rat brain implications for COVID-19 associated neurological manifestations. *Experimental Neurology* 345, 113837.

- Hill, R., A., Wyse, G. & Anderson, M. (2012). Aerobic and anaerobic forms of metabolism. In *Animal Physiology*. Eds. *Sinauer associates*, 183–206.
- Khan, S., Shafiei, M. S., Longoria, C., Schoggins, J.W., Savani, R.C. & Zaki, H. (2021). SARS-CoV-2 spike protein induces inflammation via TLR2-dependent activation of the NF- κ B pathway. *ELife*, 10, e68563.
- McFarland, A.J., Yousuf, M.S., Shiers, S. & Price, T.J. (2021). Neurobiology of SARS- CoV-2 interactions with the peripheral nervous system: implications for COVID-19 and pain. *Pain reports*, 6(1), e885.
- Sawa, T. & Akaike, T. (2022). What triggers inflammation in COVID- 19?. *ELife*, 11:e76231.
- Spudich, S. & Avindra, N. (2022). Nervous system consequences of COVID-19. *Science*, 375(6578), 267–269.
- Shabani, Z. (2021), Demyelination as a result of an immune response in patients with COVID-19. *Acta Neurologica Belgica*, 121(4), 859–866.
- Shiers, S., Ray, P.R., Wangzhou, A., Sankaranarayanan, I., Tatsui, C.E., Rhines, L.D., Li, Y., Uhelski, M.L., Dougherty, P.M. & Price, T. J. (2020). ACE2 and SCARF expression in human dorsal root ganglion nociceptors: implications for SARS-CoV-2 virus neurological effects. *Pain*, 161(11), 2494–2501.
- World Health Organization COVID-19 Explorer (2020). Geneva: World Health Organization. [cited 2022 May 30]. <https://worldhealthorg.shinyapps.io/covid/>

DINÁMICA DE LA MAGNETIZACIÓN DE UN NANO-DISCO DE Fe EN PRESENCIA DE UN CAMPO MAGNÉTICO EXTERNO APLICADO^a

DYNAMICS OF THE MAGNETIZATION OF AN Fe NANO-DISK IN THE PRESENCE OF AN APPLIED EXTERNAL MAGNETIC FIELD

MAURICIO GALVIS-PATIÑO^{b*}, JOHANS RESTREPO-CÁRDENAS^c, JOHANA MIREYA NIÑO-ABELLA^d

Recibido 11-08-2022, aceptado 12-10-2022, versión final 6-12-2022

Artículo Investigación

RESUMEN: Se reportan los resultados a 0 K de la magnetización de un sistema geométrico de Fe, en forma de nano-disco de 3.14 nm de espesor (t), con diámetros, interno, $d = 28.26$ nm y externo $D = 200.96$ nm, en función de un campo magnético externo, en el rango $H = \pm 200$ mT, aplicado sobre uno de los ejes de fácil magnetización (x), bajo condiciones de frontera libres. El estudio se realizó a partir de una simulación computacional, utilizando el programa micromagnético Ubermag; que utiliza el paquete OOMMF y el método de diferencias finitas, con un tamaño de celda, $c = 1.57$ nm. Los resultados muestran ciclos de histéresis abiertos con campos coercitivos (H_c) bien definidos, en donde, además, se observan escalones que se asocian a campos de nucleación (H_n) y aniquilación (H_a) que se corresponden a la formación y desaparición de dominios magnéticos. En cuanto, a las configuraciones magnéticas, se aprecia la generación de dominios y paredes de dominio magnético, en algunos casos de tipo Néel. Por último, los gráficos de energías muestran un paisaje complejo en función del campo, en donde las energías desmagnetizante (E_d), intercambio (E_{ex}), anisotropía (E_K) y Zeeman (E_Z), compiten entre sí. Tal complejidad está asociada a la geometría, el tamaño del sistema, y al sentido del campo magnético externo aplicado.

PALABRAS CLAVE: Nano-disco; ubermag; diferencias finitas; histéresis.

ABSTRACT: We report the results at 0 K of the magnetization of a geometrical system of Fe, in the form of a 3.14 nm thick nano-disk (t), with diameters, internal, $d = 28.26$ nm and external $D = 200.96$ nm, as a function of an external magnetic field, in the range $H = \pm 200$ mT, applied on one of the axes of easy magnetization (x), under free boundary conditions. The study was carried out on the basis of a computational simulation using the micromagnetic

^aGalvis-Patiño, M., Restrepo-Cárdenas, J. & Niño-Abella, J. M.(2023). Dinámica de la magnetización de un nano-disco de Fe en presencia de un campo magnético externo aplicado. *Rev. Fac. Cienc.*, 12 (1), 85–97. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.fac.cienc.v12n1.104230>

^bM.Sc. en Física. Estudiante de Doctorado en Física. Grupo de Magnetismo y Simulación G+. Instituto de Física. Universidad de Antioquia. A.A. 1226, Medellín, Colombia. Director de I+D+i de Cannabis Industrial SAS. Miembro del Grupo de Investigación y Estudio del Cannabis y Otros Enteógenos (GIECE).

* Autor para correspondencia: mauricio.galvisp@udea.edu.co

^cPh. D. en Física. Profesor Titular. Director del Grupo de Magnetismo y Simulación G+. Instituto de Física. Universidad de Antioquia. A.A. 1226, Medellín, Colombia.

^d M.Sc. en Física Médica. Directora Científica de Cannabis Industrial. Coordinadora del Grupo de Investigación y Estudio del Cannabis y Otros Enteógenos (GIECE). Guaduas, Cundinamarca.

program Ubermag; which uses the OOMMF package and the finite difference method, with a cell size, $c = 1.57$ nm. The results show open hysteresis loop with well-defined coercive fields (H_c), where in addition steps are observed that are associated with nucleation (H_n) and annihilation (H_a) fields that correspond to the formation and disappearance of magnetic domains. As for the magnetic configurations, the generation of domains and magnetic domain walls, in some cases of Néel type, is appreciated. Finally, the energy plots show a complex landscape as a function of the field, where demagnetizing (E_d), exchange (E_{ex}), anisotropy (E_K) and Zeeman (E_Z) energies compete with each other. Such complexity is associated with the geometry, the size of the system, and the direction of the applied external magnetic field.

KEYWORDS: Nano-disk; ubermag; finite differences; hysteresis.

1. INTRODUCCIÓN

Durante las últimas tres décadas la ciencia y la tecnología tuvieron un gran avance. Parte de éste se debió a la incursión de las tierras raras (TR) (Porcher *et al.*, 2000), en la industria, así como también al desarrollo computacional, lo que permitió la creación de dispositivos eficaces a escala micrométrica (Ortega *et al.*, 2011), dando paso a la miniaturización, en donde la geometría y el tamaño juegan un papel importante en la determinación de las propiedades físicas de un material (Guillem, 2018). Actualmente, los grupos de investigación de diversas universidades y compañías buscan optimizar tiempos y costos en la fabricación de esta clase de insumos para la industria (Monteblanco *et al.*, 2017), razón por la cual se ha implementado el estudio micromagnético a nivel computacional, llegando a obtener resultados con lujo de detalles a través de simulaciones en un orden de magnitud inaccesible para la parte experimental (Vigo, 2018). Así por ejemplo, en función de diversos parámetros, se puede determinar cómo es la dinámica de la magnetización de un material específico, observando distintos estados magnéticos acompañados de la formación de dominios y paredes de dominio magnético (Suárez *et al.*, 2015). Además, durante los procesos de magnetización, es posible apreciar la competición de las diversas energías que componen el Hamiltoniano del sistema, como son: la energía de intercambio (E_{ex}) de corto alcance que intenta acoplar los momentos magnéticos a nivel local, la energía desmagnetizante (E_d), la responsable de generar los dominios magnéticos, la energía de anisotropía (E_K) que direcciona los momentos magnéticos sobre los ejes de fácil magnetización y finalmente; la energía Zeeman (E_Z) que intenta alinear los momentos magnéticos con el campo magnético externo aplicado (Blanco-Roldán, 2017).

Sin embargo, en la literatura, no se ha profundizado en los paisajes de estas energías en función de un campo magnético aplicado; el objetivo de este trabajo es contribuir a la comprensión de los mecanismos de magnetización e inversión de la magnetización de un nano-disco de hierro, así mismo, entender el rol que juegan las distintas energías que integran el Hamiltoniano del sistema en dichos procesos.

2. MODELO Y ASPECTOS METODOLÓGICOS

Se consideró un sistema geométrico de Fe, en forma de nano-disco de 3.14 nm de espesor (t), con diámetros, interno, $d = 28.26$ nm y externo $D = 200.96$ nm. Los parámetros de entrada del Fe, mostrados en la Tabla 1 corresponden al hierro en “bulk”, y como primera aproximación se han tomado iguales para nuestro estudio, a pesar de las dimensiones de nuestro sistema, dado que se está en el rango de las decenas de nanómetros, incluso por encima de los 100 nm en el caso del diámetro externo, lo que permite considerar una aproximación al continuo con parámetros similares a los del bulk.

Se partió de un estado aleatorio de magnetización, donde los momentos magnéticos no tienen una orientación privilegiada; seguidamente, se aplicó un campo magnético externo, $H = \pm 200$ mT (paso de 5 mT) en dirección x , coincidiendo con uno de los ejes de fácil magnetización que posee el hierro $[1, 0, 0]$; en cuanto, al tiempo transcurrido entre una iteración y la siguiente se fijó en 0.5 ns, que es el tiempo de integración de la ecuación (2). Este tiempo debe ser lo suficientemente pequeño para permitir variaciones graduales y continuas del vector magnetización en cada celda, lo que permite alcanzar una variación mínima entre el ángulo formado por momentos magnéticos entre dos posiciones adyacentes.

La simulación micromagnética se realizó utilizando el programa Ubermag que usa el software *Object Oriented Micromagnetic Framework* (OOMMF) desarrollado por el *National Institute of Standards and Technology* (NIST), (Donahue, 1999). Así mismo, se usó el método de diferencias finitas (Figura 2), a través del cual la muestra es dividida en pequeñas celdas cúbicas unitarias idénticas en forma de paralelepípedo (Ledesma, 2015).

El tamaño de la celda de discretización se fijó en 1.57 nm, magnitud más pequeña que la longitud de intercambio (Abo *et al.*, 2013), dada por:

$$l_{ex} = \sqrt{2A/(\mu_0 M_s^2)} = 3.4 \text{ nm} \quad (1)$$

Tabla 1: Parámetros físicos de entrada para Fe, Hahn(2019).

Propiedad	Valor
Constante de anisotropía (K_1)	48 kJ/m ³
Tipo de anisotropía	Cúbica
Planos cristalinos	[100]/[010]
Constante de rigidez (A_x)	21 pJ/m
Constante de amortiguamiento (α)	1.00
Magnetización de saturación (M_s)	1.70 MA/m
Celda de discretización	1.57 nm

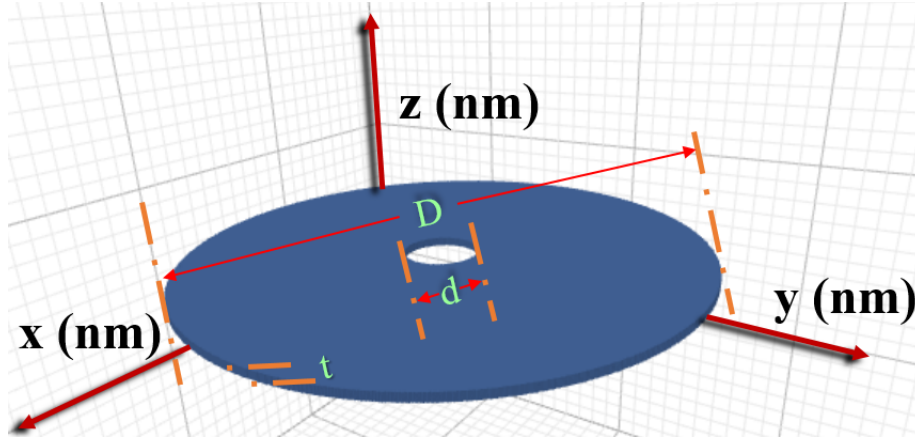


Figura 1: Nano-disco de Fe con diámetro interno (d), externo (D) y espesor (t). Fuente: Elaboración propia.

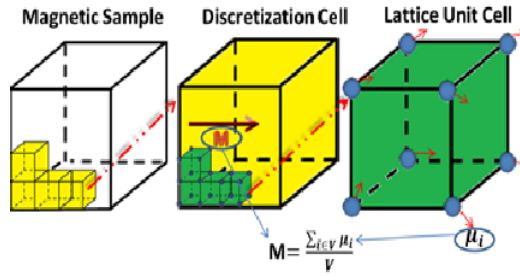


Figura 2: Método de diferencias finitas. Fuente: Elaboración propia.

donde μ_0 es la permeabilidad del espacio libre (Suárez *et al.*, 2015). En cuanto, a la dinámica de la magnetización, esta se resuelve a partir de la ecuación diferencial de Landau-Lifshitz-Gilbert (Ecuación 2) (Lakshmanan *et al.*, 2011), dada por:

$$\frac{d\mathbf{m}}{dt} = \underbrace{-\gamma_0(\mathbf{m} \times \mathbf{H}_{eff})}_{\text{precesion}} + \underbrace{\alpha \left(\mathbf{m} \times \frac{d\mathbf{m}}{dt} \right)}_{\text{amortiguamiento}}, \quad (2)$$

en donde la precesión del vector magnetización (m) alrededor del campo efectivo (H_{eff}), está representado por el primer término de esta ecuación; mientras el segundo describe la disipación de éste hasta alcanzar el equilibrio (Figura 3), además, $\gamma_0 = \mu_0\gamma = 2.2 \times 10^5 \text{mA}^{-1}\text{s}^{-1}$, es la razón giromagnética y α es la constante de amortiguamiento de Gilbert.

En cuanto al campo efectivo, está dado por:

$$\mathbf{H}_{eff} = -\frac{1}{\mu_0 M_s} \frac{\delta w(\mathbf{m})}{\delta \mathbf{m}}, \quad (3)$$

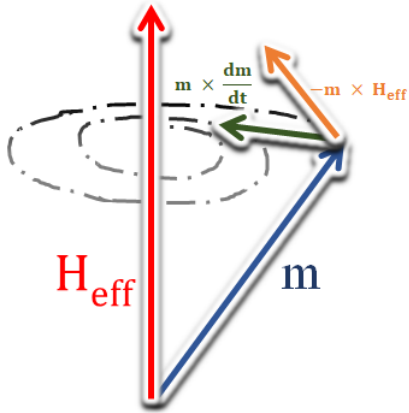


Figura 3: Representación gráfica de la ecuación de Landau - Lifshitz - Gilbert (LLG). Fuente: Elaboración propia.

siendo $w(\mathbf{m})$ el funcional de densidad de energía del sistema, y está determinado a través de:

$$w(\mathbf{m}) = w_1 + w_2 + w_3 + \dots = \sum_{i=1} w_i(\mathbf{m}). \quad (4)$$

Integrando sobre el volumen total de la muestra, se obtiene:

$$E[\mathbf{m}] = \int_V w(\mathbf{m}) dV. \quad (5)$$

A su vez, el Hamiltoniano del sistema viene dado por:

$$\mathcal{H} = -A\mathbf{m} \cdot \nabla^2 \mathbf{m} - K[(\mathbf{m} \cdot \mathbf{u}_1)^2(\mathbf{m} \cdot \mathbf{u}_2)^2 + (\mathbf{m} \cdot \mathbf{u}_2)^2(\mathbf{m} \cdot \mathbf{u}_3)^2 + (\mathbf{m} \cdot \mathbf{u}_3)^2(\mathbf{m} \cdot \mathbf{u}_1)^2] - \frac{1}{2}\mu_0 M_s \mathbf{m} \cdot \mathbf{H}_d - \mu_0 M_s \mathbf{m} \cdot \mathbf{H}. \quad (6)$$

El primer término es la energía de intercambio (E_{ex}), donde A es la constante de rigidez, el segundo corresponde a la energía de anisotropía cúbica (E_K), K es la constante de anisotropía, de igual forma, el tercero representa la energía de desmagnetización (E_d), siendo M_s , la saturación del sistema, en donde el campo desmagnetizante (H_d) se genera gracias a la formación de cargas magnéticas libres en la superficie de la muestra y el último término es la energía Zeeman (E_Z), donde H representa el campo magnético externo aplicado a lo largo del eje de fácil magnetización (x), en direcciones $[1, 0, 0]$ y $[-1, 0, 0]$, respectivamente.

3. RESULTADOS

La Figura 4 muestra el ciclo de histéresis, donde, se evidencia en cada una de las ramas (negra para la rama de campo decreciente y azul para la rama de campo ascendente), tres campos críticos: (a) uno de nucleación (H_n), también conocido como campo de inversión de la magnetización, fuertemente ligado a la geometría y el tamaño del material estudiado, se caracteriza por la variación abrupta de la magnetización acompañada de un movimiento rápido de las paredes de dominio, para el cual ocurre una reorganización de las mismas;

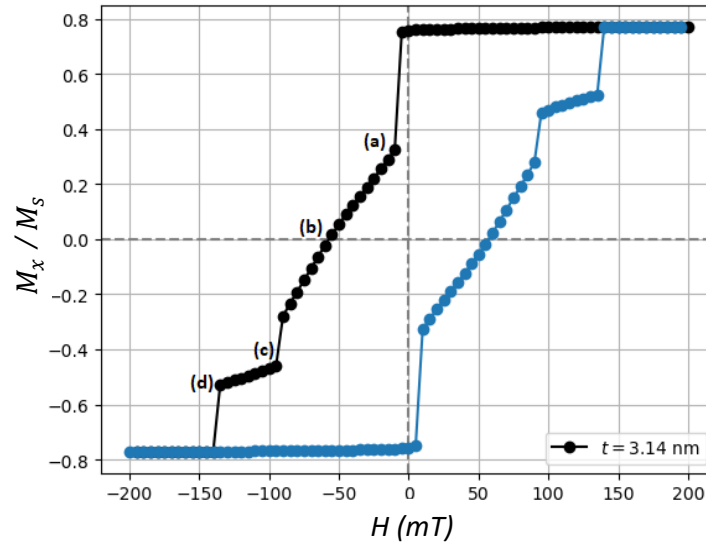


Figura 4: Ciclo de histéresis de un nano-disco de Fe, obtenido con Ubermag. a) Primer campo de nucleación (H_n). b) Campo coercitivo (H_c). c) Segundo campo de nucleación (H_n) y d) Campo de aniquilación total (H_a). Los puntos negros corren a lo largo de la rama de campo descendente del ciclo de histéresis empezando en $H = +200\text{mT}$, mientras que los puntos azules corren a lo largo de la rama de campo ascendente del ciclo de histéresis empezando en $H = -200\text{mT}$. Fuente: Elaboración propia.

este campo está asociado a tres dominios magnéticos (Figura 5c); (b) otro coercitivo (H_c); (c) uno más de nucleación (H_n), acompañado de dos dominios magnéticos (Figura 6a) y (d) uno total de aniquilación (H_a). Por su parte la Figura 5 presenta las configuraciones magnéticas, donde al hacer un recorrido de derecha a izquierda por la rama superior representada por los círculos negros, se encuentra un primer estado de saturación (M_s), a partir de los 200 mT (Figura 5 a), donde aunque la mayor parte de los momentos magnéticos apuntan en la misma dirección, tanto del campo magnético externo aplicado, como de uno de los ejes de fácil magnetización $[1, 0, 0]$, también, se pueden observar en los bordes de la muestra paredes de dominio y momentos magnéticos con componentes fuera del plano, (Gélvez *et al.*, 2019). Siguiendo el recorrido, en el estado de remanencia (M_r), se encuentra un comportamiento similar al anterior, sin embargo, se nota un pequeño crecimiento hacia el centro de las paredes de dominio magnético (Figura 5 b). A partir de este punto, el campo magnético externo es aplicado de forma contraria a la orientación inicial, coincidiendo con una de las direcciones de fácil magnetización $[-1, 0, 0]$. Lo que genera un primer campo de nucleación (H_n) (Ortega *et al.*, 2011), dando inicio al proceso de inversión de la magnetización mediante la rotación de los momentos magnéticos (Figura 5 c). Como consecuencia, se observan tres dominios magnéticos separados por paredes de dominio magnético: 1) en la parte izquierda, los momentos magnéticos se orientan con componentes fuera del plano (x, y) en la dirección $(+z)$. 2) en la parte derecha, nuevamente se tiene una orientación con componentes fuera del plano (x, y), pero, esta vez en dirección $(-z)$. 3) por último, se tiene una región media entre estas dos regiones, en la cual los momentos magnéticos se orientan de manera coplanar al plano (x, y), lo que genera paredes de dominio magnético entre estos tres estados magnéticos. Siguiendo el recorrido hasta un valor cercano al campo coercitivo (H_c) (Figura 5 d), se observa como la mayor parte de los domi-

nios magnéticos hacen parte de dos grandes regiones antiparalelas, formando dominios magnéticos que se encuentran separados por una pared de dominio magnético del tipo Néel, (Montebianco *et al.*, 2010).

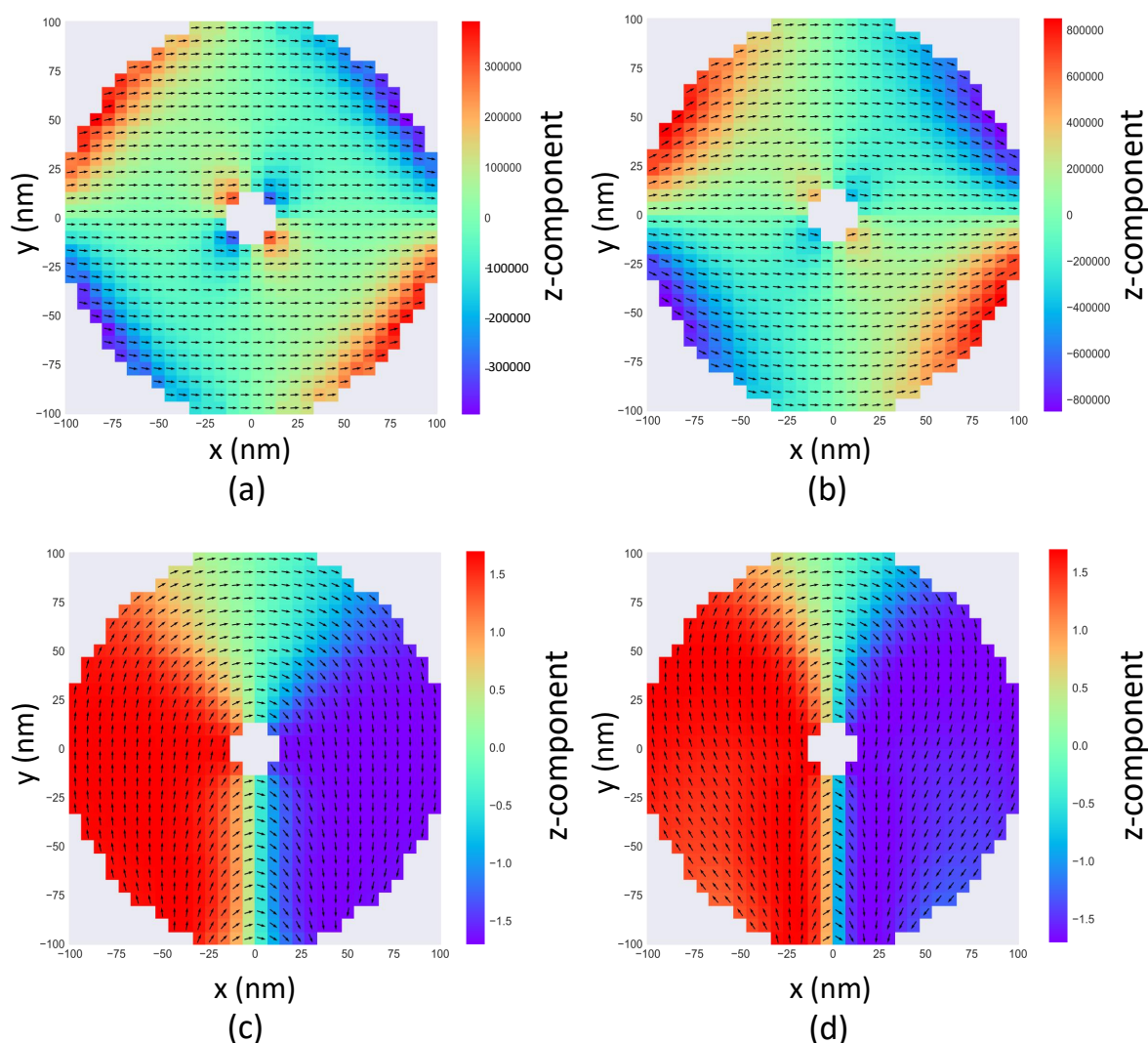


Figura 5: Gráficos de magnetización de un nano-disco de Fe en presencia de un campo magnético externo aplicado de: a) $H = 200$ mT, b) $H = 0$ mT, c) $H = -10$ mT y d) $H = -50$ mT. Fuente: Elaboración propia.

Al continuar con el trayecto a través del ciclo de histéresis, se ve como estas dos subregiones empiezan a desvanecerse, a costa del crecimiento de aquellos dominios magnéticos que se encuentran en un sentido similar al campo magnético externo aplicado (Figura 6 a). Esto provoca que los momentos magnéticos se orienten de forma coplanar al plano (x, y) ; asimismo, se aprecia el crecimiento de estos dominios magnéticos desde los extremos hacia el centro de la muestra, reduciendo la cantidad de paredes de dominio magnético (Figura 6 b); para finalizar, el recorrido, se encuentra un segundo campo de nucleación, donde los domi-

nios magnéticos crecen (Figura 6 c), lo que permite la inversión total de la mayor parte de los momentos magnéticos agrupados en un gran dominio magnético orientado en el sentido del campo magnético externo aplicado (Figura 6 d), en un nuevo estado de saturación ($-M_s$) pero, al igual que lo sucedido en el estado de saturación inicial (M_s), también se observan paredes de dominio y momentos magnéticos que apuntan fuera del plano en dirección ($\pm z$), en los bordes de la muestra (Guillem, 2018).

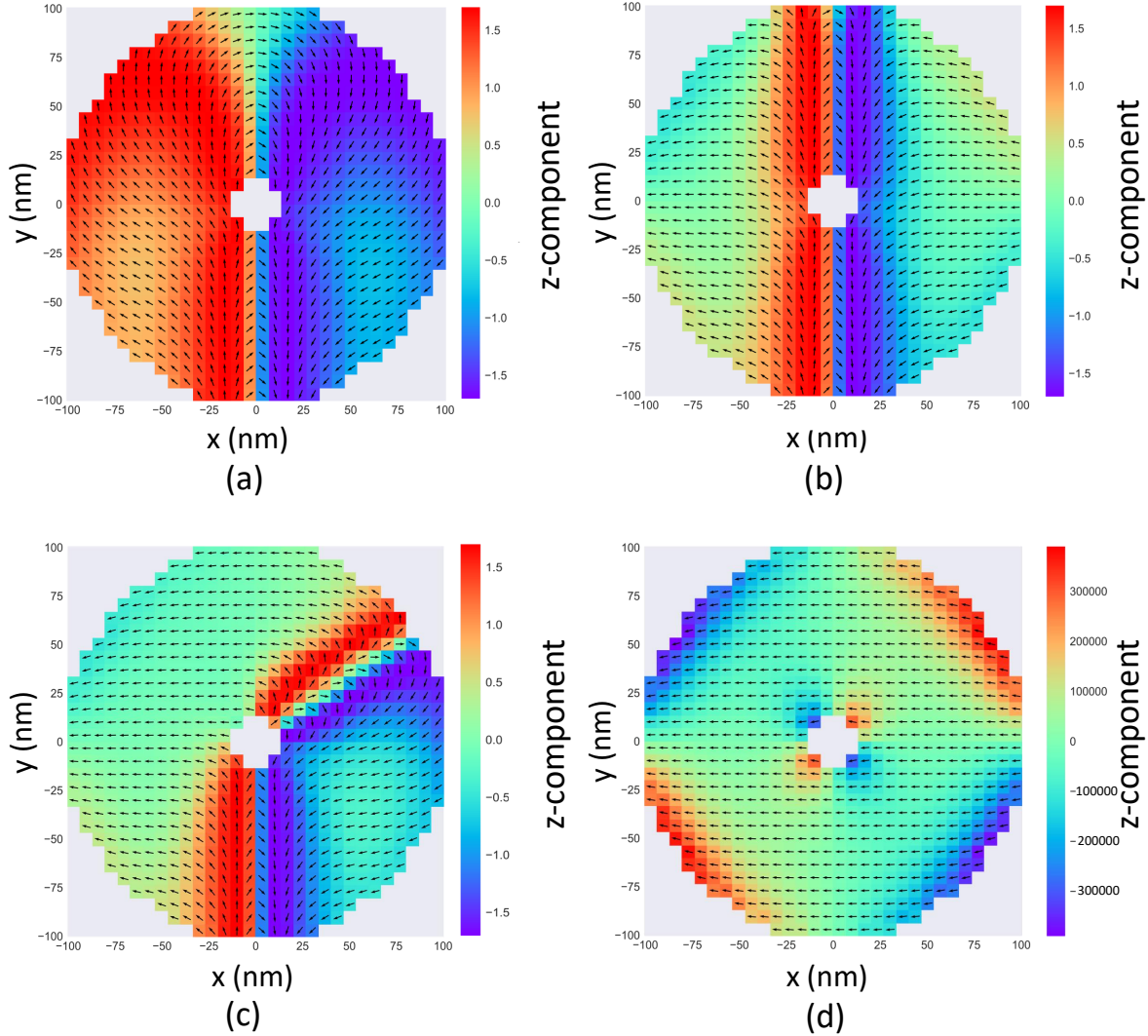


Figura 6: Gráficos de magnetización de un nano-disco de Fe en presencia de un campo magnético externo aplicado de: a) $H = -80$ mT, b) $H = -120$ mT, c) $H = -135$ mT y d) $H = -200$ mT. Fuente: Elaboración propia.

De forma general, se puede apreciar que, en los dos estados magnéticos de saturación, $\pm M_s$ (Figura 5 a y Figura 6d), así, como en el estado magnético de remanencia M_r (Figura 5 b), se presentan comportamientos magnéticos diferentes tanto, en los bordes como en el centro, respecto al resto de la muestra. Básicamente la

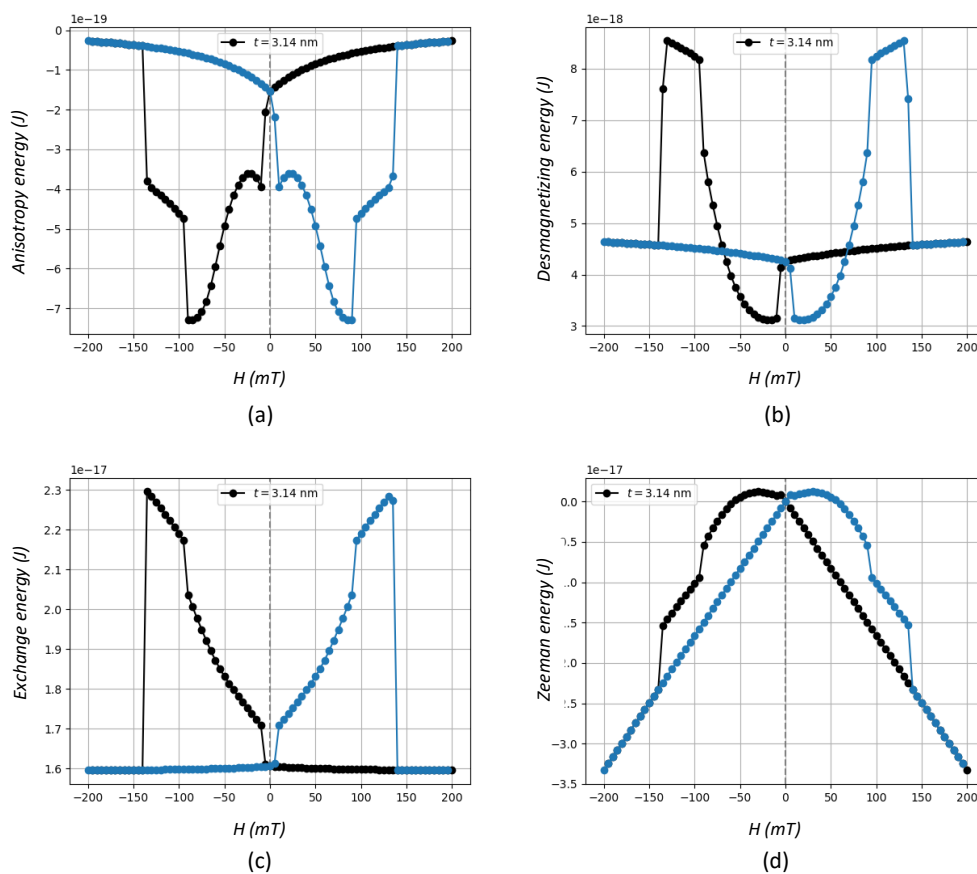


Figura 7: Gráficos de energías de un nano-disco de Fe en presencia de un campo magnético externo aplicado: a) Energía de anisotropía (E_K), b) Energía desmagnetizante (E_d), c) Energía de intercambio (E_{ex}) y d) Energía Zeeman (E_Z). Los puntos negros corren a lo largo de la rama de campo descendente del ciclo de histéresis empezando en $H = +200$ mT, mientras que los puntos azules corren a lo largo de la rama de campo ascendente del ciclo de histéresis empezando en $H = -200$ mT. Fuente: Elaboración propia.

razón de este fenómeno se debe al menor número de coordinación que tienen las celdas de discretización en los bordes y por tanto menor número de enlaces ferromagnéticos con las celdas vecinas, lo que aumenta el número de grados de libertad para estos momentos magnéticos y permite que éstas sean regiones altamente influenciadas o susceptibles (magnéticamente) a las otras energías presentes en el Hamiltoniano.

La Figura 7 muestra los gráficos de energía, en donde al hacer un recorrido similar al anterior, se tiene un primer estado de saturación (M_s), para un valor de $H = 200$ mT, donde la mayor parte de los momentos magnéticos se encuentran paralelos entre sí, y apuntando en el sentido del campo magnético externo aplicado, lo que conduce a que las energías de intercambio (E_{ex}) y Zeeman (E_Z) presenten un mínimo absoluto, no obstante, en los bordes y en el centro de la muestra se contemplan tanto, paredes como dominios magnéticos en donde los momentos magnéticos se orientan con componentes fuera del plano (x, y) en sentido ($\pm z$), provocando que la energía de anisotropía (E_K) muestre un valor máximo absoluto, ya que no todos los momentos magnéticos se encuentran orientados sobre el eje de fácil magnetización en dirección $[1, 0, 0]$, por el contrario, la energía desmagnetizante (E_d) logra un valor mínimo relativo. Una vez se alcanza el estado de remanencia a campo cero (M_r), se observa un estado magnético similar al de saturación (M_s); en donde se nota una pequeña disminución de las energías de desmagnetización (E_d), y de anisotropía (E_K), debido al crecimiento de las paredes de dominio magnético; en cuanto, a la energía de intercambio (E_{ex}), ésta se mantuvo constante, ya que al ser una energía de corto alcance, no se ve afectada por este pequeño crecimiento de las paredes de dominio magnético, caso contrario, a lo sucedido con la energía Zeeman (E_Z) que alcanzó un máximo relativo. Al aplicar el campo magnético de forma inversa, en la dirección $[-1, 0, 0]$ y cuando $H = \sim -10$ mT, se genera un campo de nucleación (H_n), en donde los momentos magnéticos hacen parte de tres (3) dominios magnéticos separados por paredes de dominio, dando lugar al inicio del proceso de inversión de la magnetización, a través del crecimiento de dominios y paredes de dominio magnético, lo que conduce a la disminución de las energías de desmagnetización (E_d) y de anisotropía (E_K); por su parte, las energías Zeeman (E_Z) y de intercambio (E_{ex}) presentan una variación mínima. Siguiendo el recorrido a través del campo de nucleación (H_n) hasta los ~ -50 mT, se observa un paisaje de energías bastante complejo con estados magnéticos diferentes, además, con momentos magnéticos orientados de manera coplanar, como también, entrando y saliendo del plano (x, y), lo que permite que la energía de anisotropía (E_K) alcance su mínimo valor, debido a la orientación de los momentos magnéticos sobre las seis (6) direcciones posibles de los tres (3) ejes de fácil magnetización (x, y, z), para luego salir de este estado y empezar a aumentar su magnitud por debajo de los 90 mT donde ocurre el segundo campo de nucleación (H_n) y el cual corresponde a la transición de un estado de tres momentos a uno de dos momentos magnéticos. Por su parte, la energía Zeeman (E_Z) alcanza su máximo valor para luego empezar a disminuir, mientras se tiene un pequeño aumento de las energías de intercambio (E_{ex}) y desmagnetizante (E_d). Siguiendo a través del campo de nucleación se observa que hasta valores de $H = \sim -90$ mT, la energía de anisotropía (E_K) logra su estado de equilibrio, de forma similar la energía Zeeman (E_Z) presenta una pequeña reducción, caso contrario sucede con las energías de intercambio (E_{ex}) y desmagnetizante (E_d) que señalan claramente una tendencia al aumento en sus valores.

Para valores de $H = \sim -135$ mT, la tendencia en cuanto al comportamiento de las energías de intercambio (E_{ex}) y de anisotropía (E_K) se mantiene igual, alcanzando sus máximos valores. Con respecto a la energía dipolar (E_d) ésta alcanza un valor cercano al máximo, contrario sucede con la energía Zeeman (E_Z) que alcanza un mínimo relativo. A partir de este punto y hasta alcanzar el nuevo estado de saturación ($-M_s$), en $H = -200$ mT, la energía desmagnetizante (E_d) presenta un pequeño aumento, a su vez, la energía de anisotropía (E_K) logra su máximo valor; sin embargo, debido a que en este estado la mayor parte de momentos magnéticos se encuentran orientados con el campo magnético externo aplicado se favorece un estado de equilibrio tanto para la energía Zeeman (E_Z), como para la energía de intercambio (E_{ex}), las cuales de nuevo alcanzan su mínimo valor.

4. CONCLUSIONES

La dinámica de la magnetización de un sistema geométrico de Fe, en forma de nano-disco de 3.14 nm de espesor (t), con diámetros, interno, $d = 28.26$ nm y externo $D = 200.96$ nm, en función de un campo magnético externo de $H = \pm 200$ mT aplicado en dirección del eje (x), mostró un paisaje complejo de energías, en donde, a pesar que las energías Zeeman (E_Z) y de intercambio (E_{ex}) resultaron ser de un orden mayor de magnitud que las energías de anisotropía (E_K) y desmagnetizante (E_d), se observó una competencia directa entre estas cuatro (4) clases de energía, lo que resultó en la formación de dominios y paredes de dominio magnético, en algunos casos de tipo Néel y con transiciones bien marcadas de estados de tres dominios a dos dominios magnéticos. Asimismo, se originaron campos de nucleación (H_n) y aniquilación (H_a) durante el proceso de inversión de la magnetización, lo que condujo a la fluctuación de algunas energías, acompañadas de momentos magnéticos con componentes orientados tanto de forma coplanar, como fuera del plano (x, y) en la dirección ($\pm z$).

Agradecimientos

Johans Restrepo agradece a la Universidad de Antioquia por la asignación de dedicación exclusiva. El apoyo financiero fue brindado por los proyectos CODI-UdeA 2017-16253 y 2020-34211.

Contribución de los autores

Mauricio Galvis y Johans Restrepo: metodología, Mauricio Galvis: software, Mauricio Galvis y Johans Restrepo: validación, Mauricio Galvis, Johans Restrepo y Johana Niño: análisis formal, Johans Restrepo: investigación, Mauricio Galvis y Johans Restrepo; escritura–preparación de gráficos originales, Mauricio Galvis: escritura–revisión y edición, Johans Restrepo y Johana Niño: supervisión.

Referencias

- Abo, G. S., Hong, Y. K., Park, J., Lee, J., Lee, W. & Choi, B. C. (2013). Definition of magnetic exchange length. *IEEE Transactions on Magnetics*, 49, 4937-4939.
- Blanco Roldán, C. (2017). Interacciones magnéticas en sistemas tierra rara-metal de transición y su estudio mediante técnicas de radiación sincrotrón. [Consultada en diciembre de 2021]. Disponible en: <https://digibuo.uniovi.es/dspace/handle/10651/44970>
- Donahue, M. J. & Donahue, M. J. (1999). OOMMF user's guide, version 1.0. [Consultada en noviembre de 2018]. Disponible en: <https://nvlpubs.nist.gov/nistpubs/Legacy/IR/nistir6376.pdf>
- Gélvez, C. F. & Patiño, E. J. (2019). Coercive field enhancement in Co nanodisks: single-domain to vortex switching. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 31, 13LT01.
- Guillem Fernández, P. E. (2018). Estudio computacional de la dinámica de paredes entre dominios magnéticos: aplicación a stacks asimétricos. [Consultada en febrero de 2022]. Disponible en: <https://uvadoc.uva.es/handle/10324/32032?mode=full>
- Hahn, M. B. (2019). Temperature in micromagnetism: cell size and scaling effects of the stochastic Landau–Lifshitz equation. *Journal of physics communications*, 3, 075009.
- Junior, M. G. M. Simulação da Dinâmica Do Micromagnetismo de Vórtices Implementados em Plataformas de Programação em Paralelo. [Consultada en diciembre de 2021]. Disponible en: <http://repositorio.ufjf.br/jspui/bitstream/ufjf/13514/1/maxwelgamamonteirojunior.pdf>
- Lakshmanan, M. (2011). The fascinating world of the Landau-Lifshitz-Gilbert equation: an overview. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 369, 1280-1300.
- Ledesma, A. C., Rosas, K. I. G. & Bernal, O. M. (2015). Introducción al Método de Diferencias Finitas y su Implementación Computacional. Bernal, Facultad de Ciencias, UNAM. [Consultada en febrero de 2021]. Disponible en: <https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/66174242/IntroduccionAlMetodoDeDiferenciasFinitas>.
- Monteblanco, E. & Gutarra, A. (2010). Estudio de la Anisotropía de Películas Delgadas de Permalloy (Ni81Fe19) mediante Magnetómetro de Efecto Kerr de Superficie. *REVCIUNI*, 13, 1-10.
- Monteblanco, E., Pauyac, C. O., Savero, W., Sanchez, J. C. R. & Schuhl, A. (2017). Espintrónica, la electrónica del Espín. *TECNIA*, 23, 1-12.
- Ortega, J. J. B. & Joya, M. R. (2011). Nucleación de vórtices y antivórtices en películas superconductoras con nanoestructuras magnéticas. *Respuestas*, 16, 45-49.

- Porcher, P., Puche, R. S., Maestro, P. & Cascales, C. (2000). Tierras raras: materiales avanzados. In *Anales de la Real Sociedad española de Química*, 4, 11-26.
- Suárez, R. R. & Fermín, J. (2015). Dinámica de la magnetización de medios magnéticos. *Publicaciones en Ciencias y Tecnología*, 9, 63-74.
- Vigo Cotrina, H. E. (2018). Influencia de la anisotropía uniaxial en la configuración magnética de nanodiscos usando simulación micromagnética.