

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *ASPERGILLUS NIGER* Y EVALUACIÓN DE SU TOLERANCIA A METALES TÓXICOS.

Ana Gloria Villalba Villalba¹, Grecia Vianey Azuara Gómez²

¹CONACYT-Universidad de Sonora, ²Universidad Estatal de Sonora.

RESUMEN

La contaminación por metales representa un riesgo significativo para los ecosistemas, por lo tanto, es necesario reducir la biodisponibilidad, movilidad y toxicidad de esos elementos. El objetivo de este trabajo fue aislar e identificar una especie de hongo filamentoso con capacidad para tolerar metales. El hongo se aisló a partir de suelo con actividad minera y se identificó en base a sus principales características morfológicas, macro y microscópicas. Se determinó el índice de tolerancia y la concentración mínima inhibitoria (CMI) del hongo a 1, 5, 10, 15 y 20 mM de sales metálicas de Cd, Hg, Pb, Ag, Cu, Zn y Cr. El hongo aislado fue *Aspergillus niger* mostrando índices de tolerancia de 0.89 ± 0.12 , 1.03 ± 0.14 , 1.05 ± 0.18 , 0.94 ± 0.11 , 0.88 ± 0.04 , 0.87 ± 0.06 y 1.27 ± 0.07 a 1 mM de las sales de Cd, Hg, Pb, Ag, Cu, Zn y Cr, respectivamente, después de siete días de crecimiento a 28 °C. La CMI de *A. niger* se encontró en un intervalo de 5 a 10 mM de la sal de mercurio, cobre y plata y 15 a 20 mM de la sal de cadmio. Mientras que las sales de plomo, zinc y cromo no inhibieron el crecimiento del hongo con la concentración más alta evaluada; es decir, la CMI es mayor de 20 mM. Según los resultados obtenidos, concluimos que *A. niger* tiene potencial para la biorremediación de los metales evaluados, ya que mostró alta tolerancia a estos contaminantes.

INTRODUCCIÓN

En la antigüedad se creía que las personas tenían una abundancia ilimitada de la tierra y sus recursos; hoy, sin embargo, los recursos en el mundo muestran un mayor o menor grado de nuestro descuido y negligencia en el uso de ellos. En muchas partes del mundo, los problemas asociados a los lugares contaminados están creciendo (Mudhoo y Mohee 2012). Aquellos sitios contaminados con miles de compuestos químicos en concentraciones y composiciones variables exigen diversas estrategias y desarrollo de nuevas tecnologías que sean eficientes y suficientes para hacer viable la remediación a bajos costos, incluso en áreas de difícil acceso donde el apoyo financiero es además limitado. Existen varios métodos tradicionales (físico-químicos) que se han aplicado para superar este inconveniente. Los mejores son aquellos que logran eliminar por completo los contaminantes, o al menos transformarlos en productos menos tóxicos (Kumavath y Deverapalli 2013). Otro método que está siendo considerado en la actualidad es la biorremediación, entre sus principales puntos positivos son los relativamente bajos costos de operación y técnicas sencillas de aplicación (Robb et al., 1995); además tiene una alta aceptación por la sociedad y generalmente se puede llevar a cabo *in situ* (Megharaj et al., 2011). La contaminación de suelos, sedimentos y reservorios naturales de agua con metales es uno de los mayores problemas ambientales alrededor del mundo (Srivastava y Thakur, 2006). Estos micro contaminantes inorgánicos son encontrados en efluentes generados por varios tipos de industrias, entre ellas galvanoplastia, carrocería, metalurgia, curtidurías y manufactura de baterías (Ezzouhri et al., 2009). Se ha visto que la introducción de metales a los ecosistemas induce cambios morfológicos y fisiológicos en las comunidades de microbianas (Verma, 2001). Lo anterior implica que tales sitios contaminados se han convertido en una fuente de microorganismos (bacterias y hongos filamentosos) resistentes a dichos micro contaminantes (Gadd, 1993). Por lo tanto es importante investigar a cerca de este tipo de organismos y su potencial para biorremediar dichos contaminantes tóxicos, ya que los métodos tradicionales: la precipitación química, intercambio iónico y ósmosis inversa son caros e ineficientes para tratar efluentes con concentraciones diluidas de metales (Mailk, 2004). Los métodos biológicos como la bioacumulación y/o biotransformación para remoción de metales es una atractiva alternativa a los métodos físico-químicos (Hussein et al., 2004). Recientes estudios muestran que las cepas de hongos aisladas de sitios contaminados tienen una excelente capacidad de eliminación de cantidades significativas de metales (Malik, 2004). El-Morsy (2004) estudió 32 especies fúngicas aisladas a partir de agua contaminada en Egipto por su resistencia a metales y encontró que la biomasa de *Cunninghamella echinulata* podría emplearse como un bioadsorbente de iones metálicos en aguas residuales. De la misma manera, Zafar et al. (2007) informaron que la biosorción por dos hongos filamentosos, *Aspergillus sp.* y *Rhizopus sp.*,

aislados de suelos agrícolas contaminados con metales Cd y Cr es prometedora. *Aspergillus fumigatus* y *Aspergillus flavus* han mostrado alta tolerancia al Zn proveniente de aguas contaminadas por la industria del textil (Pandey et al., 2013), así como también al Pb, Zn, Cu, y Ni de los efluentes derivados de la industria del papel (Thippeswamy et al., 2012). Estos microorganismos son conocidos por tolerar y desintoxicar los metales por varios mecanismos, por ejemplo el cambio de valencia, precipitación intra y extracelular, además de la captación activa (Gadd, 1993). La alta relación volumen superficie y capacidad para transformar metales están entre las razones principales para ser considerados como alternativa potencial para la biorremediación de soluciones diluidas y residuos sólidos contaminados con metales tóxicos (Joo et al., 2011). La absorción de los metales por las células vivas depende de la especie, tiempo de contacto, pH de la solución, temperatura, condiciones de cultivo, concentración inicial de iones del metal y número de células en la solución. La principal ventaja en el uso de los hongos para la biorremediación de metales es la gran capacidad de absorción a cambio de bajos costos de inversión (Melgar et al., 2007).

PARTE EXPERIMENTAL

Reactivos

Los metales pesados que se utilizaron fueron Cr, Pb, Zn, Cd, Ag, Hg, Cu en su estado de sal: dicromato de potasio, acetato de plomo, sulfato de zinc, cloruro de cadmio, nitrato de plata, cloruro de mercurio y sulfato cúprico, respectivamente. Y como medio de cultivo para el hongo se utilizó agar papa dextrosa (PDA).

Aislamiento e identificación del hongo

El aislamiento del hongo se realizó a partir de suelo de una mina activa ubicada en el estado de Sonora, México. El suelo se colectó en recipientes previamente esterilizados. Muestras de 1 g de suelo fueron depositadas en 100 mL de agua destilada y esterilizada, dicha mezcla se agitó por 20 min a 25 °C para posteriormente realizar diluciones de 1:10, 1:100 y 1:1000. Después de tomaron alícuotas de 100 µL de cada dilución, se colocaron en placas Petri con medio de cultivo PDA) y se incubaron a 28 °C por cinco días. Las colonias desarrolladas se seleccionaron y se repitió el procedimiento de siembra en placas Petri con PDA, hasta lograr el aislamiento y purificación de la cepa fúngica. Mientras que la identificación se realizó considerando las principales características morfológicas del hongo, macroscópicas (color, forma y tipo de colonia) y microscópicas (forma de las esporas, cabeza conidial y conidióforo).

Preparación de la suspensión de esporas

Se preparó una suspensión de esporas, la cual se utilizó para realizar los inóculos en el medio de cultivo suplementado con los metales tóxicos a evaluar. Para ello el hongo fue sembrado en un matraz Erlenmeyer de 250 ml, al cual previamente se le agregaron 50 ml de PDA, se incubó durante 7 días a 28 °C. Posteriormente se agregaron 100 ml de agua destilada a temperatura ambiente y se agitó cuidadosamente durante 5 min con ayuda de agitador magnético. El conteo de esporas se realizó con una cámara Neubauer.

Determinación del índice de tolerancia

El efecto de los metales sobre el crecimiento del hongo o también conocido como índice de tolerancia se determinó siguiendo la metodología descrita por Ezzouhri et al., 2009, la cual considera que el índice de tolerancia es igual a la relación entre el radio de las colonias del hongo tratadas con el metal y el radio de las colonias del hongo sin metal (control), es decir:

$$\text{Índice de tolerancia} = \frac{\text{Radio (cm) del micelio tratado con metal}}{\text{Radio (cm) del micelio sin metal}} \quad (1)$$

Para lo cual se procedió a sembrar el hongo (utilizando un inóculo de 10^8 esporas) en medio de cultivo PDA a 28°C suplementado con cada metal (Cd, Cr, Cu, Hg, Ag, Zn) de manera individual a una concentración de 1 mM. Se monitoreó el crecimiento del hongo cada 24 h durante 5 días midiendo el radio de las colonias; todos los ensayos se realizaron por triplicado. Las esporas utilizadas fueron de un cultivo del hongo con 7 días de crecimiento previo en PDA.

Determinación de la concentración mínima inhibitoria

La concentración mínima inhibitoria (CMI) se define como aquella concentración más baja de metal que inhibe el crecimiento de un microorganismo. En este trabajo se determinó la concentración

mínima inhibitoria de *A. niger* en presencia de los metales pesados (Cr, Pb, Zn, Cd, Ag, Hg y Cu). Para esto se incubó el hongo durante 7 días a 28 °C con cada metal (Cd, Cr, Cu, Hg, Ag, Zn) de manera individual a una concentración de 1, 5, 10, 15 y 20 mM, respectivamente, para después calcular el índice de tolerancia. Es decir, la CMI se obtuvo a partir del índice de tolerancia. Se utilizó un inóculo de 10⁸ esporas del hongo, el cual presentaba 7 días de crecimiento en PDA. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

RESULTADOS

Según las características macroscópicas de las colonias del hongo en PDA, después de siete días de crecimiento, fueron blancas a amarillentas (entre las primeras 24 a 48 h de cultivo), volviéndose negras y granuladas, con reverso amarillo a verde (Fig. 1). Por otro lado, las principales características microscópicas observadas fueron cabezas conidiales globosas de tono negro a café; conidióforos lisos de color café claro y conidios o esporas globosas. Las características previamente mencionadas coinciden para el hongo *Aspergillus niger* (Abarca, 2000; Sáez et al., 2002).

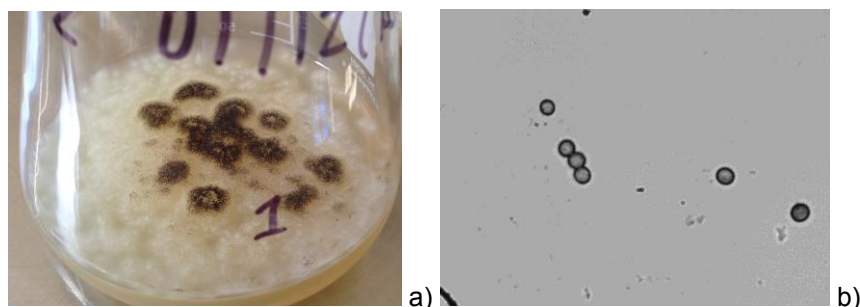


Fig. 1. Características morfológicas de *Aspergillus niger* en PDA después de 3 días de cultivo en PDA a 28 °C (a). Esporas de *Aspergillus niger* después de 5 días de cultivo en PDA a 28 °C (b).

A continuación, se muestra el índice de tolerancia del hongo *Aspergillus niger* a la presencia de los metales Cd, Hg, Pb, Ag, Cu, Zn y Cr. Un hongo filamentoso puede considerarse altamente tolerante cuando se expone a una concentración de al menos 1 mM de metales tóxicos y cuyo índice de tolerancia sea igual o mayor que 0.80 (Ezzourhi et al., 2009).

Cuando *A. niger* se expuso a cadmio en una concentración de 1 mM, después de 120 h de incubación, se encontró un índice de tolerancia de 0.59 ± 0.04 (Fig. 2), es decir el hongo fue moderadamente tolerante. Lo anterior puede deberse a un efecto de inhibición a causa de intoxicación del hongo por el metal, ya que el cadmio es considerado el metal más peligroso por su alta estabilidad y toxicidad (Jabbari Nezhad et al., 2010). Resultados similares fueron reportados por Ezzourhi et al., 2009 para dos especies de *Penicillium* sp. (S4S) y *Penicillium* sp. (S5S), 0.55 y 0.62, respectivamente; mientras que para otros hongos filamentosos como *Alternaria alternata* solamente de 0.13 y para varias especies de *Fusarium* sp. 0.00. Roane y Pepper (2000) reportaron que las diferencias entre los niveles de tolerancia pueden deberse al potencial en la variación de los mecanismos de resistencia de cada especie de microorganismo. En el presente trabajo *A. niger* incluso mostró capacidad de crecimiento a 15 mM de cadmio, con un índice de tolerancia de 0.61 ± 0.09 , sin embargo, a 20 mM ya no hubo crecimiento, por lo tanto, su CMI fue en el rango de 15 a 20 mM (Tabla 1).

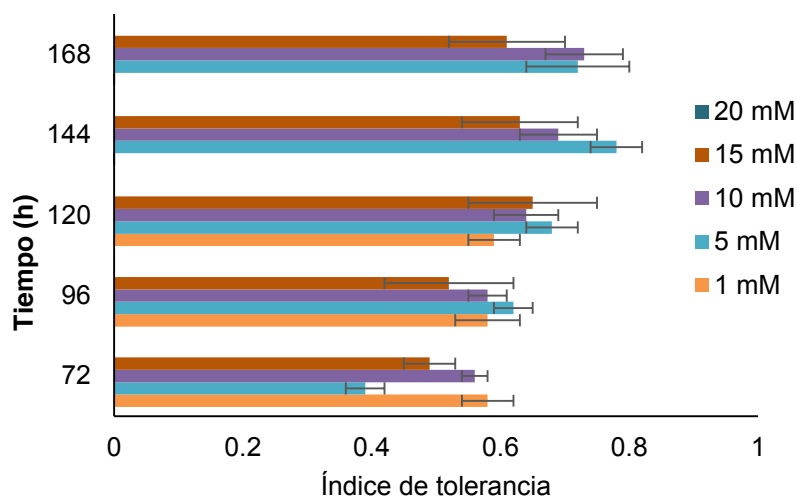


Fig. 2. Índice de tolerancia de *Aspergillus niger* a 1, 5, 10, 15 y 20 mM de Cd.

Tabla 1. Concentración mínima inhibitoria de *Aspergillus niger* por metales tóxicos.

Metal	Concentración mínima inhibitoria
Hg	5 mM
Ag	5 mM
Cu	5 mM
Cd	15 mM
Zn	≥ 20
Cr	≥ 20
Pb	≥ 20

Perfus-Barbeoch et al., 2002 reportaron que el cadmio ejerce severos efectos de inhibición en procesos fisiológicos de los organismos vivos, el crecimiento entre ellos a concentraciones menores de 2 ppm. Similarmente, Lilly et al., 1992 encontraron que solamente 0.1 a 0.2 mM de cadmio causó inhibición del crecimiento de *Schizophyllum commune*. Pero por otro lado Massaccesi et al., 2002 observaron que varias especies de hongos filamentosos aislados de sedimentos industriales contaminados pudieron remover del 63 al 70 % del cadmio durante 13 días de crecimiento; lo que demuestra la capacidad de adaptación de estos microorganismos, así como su potencial de uso en biorremediación.

Para el caso del mercurio se encontraron valores de índice de tolerancia de 1.03 ± 0.04 y 0.82 ± 0.03 a 1 y 5 mM, respectivamente (Fig. 3). Por lo que *A. niger* resultó altamente tolerante a mercurio, cabe mencionar que a concentraciones del metal superiores a 5 mM el medio de cultivo no solidificó por lo que no fue posible realizar el inóculo del hongo, por lo tanto, se desconoce la CMI. Kurniati et al., 2014 reportaron un índice de tolerancia de *Aspergillus flavus* de 0.807 con 25 mg/L de mercurio. Los hongos son conocidos por tolerar y detoxificar metales por varios mecanismos, incluyendo transformación de valencia, precipitación intra y extracelular y captación activa (Gadd, 1993).

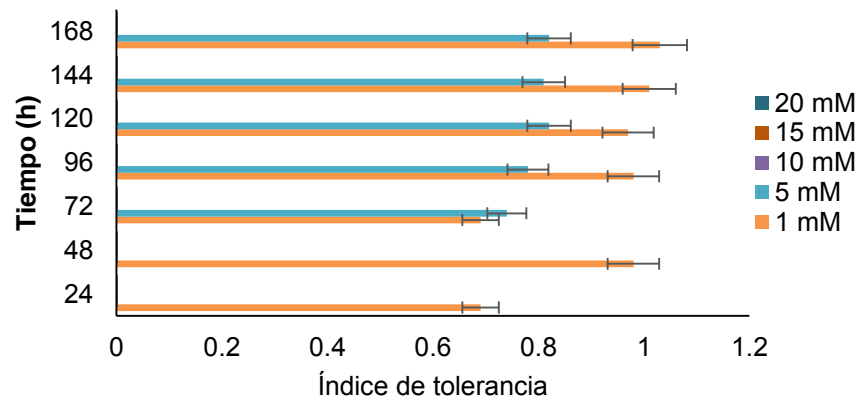


Fig. 3. Índice de tolerancia de *Aspergillus niger* a 1, 5, 10, 15 y 20 mM de Hg.

El plomo es el metal que mayormente se encuentra como contaminante en suelo, agua y aire y es también altamente tóxico para humanos, animales, plantas y microorganismos (Low et al., 2000). De ahí la importancia de la búsqueda de alternativas para tratar sitios contaminados con este metal. En ese sentido, en este trabajo se encontró que *A. niger* es altamente tolerante al plomo, ya que su índice de tolerancia fue de 1.05 ± 0.07 , 1.45 ± 0.13 , 1.78 ± 0.02 , 1.33 ± 0.01 y 0.71 ± 0.12 a 1, 5, 10, 15 y 20 mM, respectivamente (Fig. 4). Se observó un incremento en el crecimiento del hongo en todos los tratamientos, *A. niger* si mostró un crecimiento importante, es decir la CMI es mayor a 20 mM (Tabla 1). Un efecto similar encontró Ezzourhi et al., 2009 con *Alternaria alternata* al incrementar su crecimiento en 4 % en presencia de 1 mM de plomo. Sanyal et al. (2005) reportaron que el plomo no es tóxico para el hongo *Fusarium oxysporium*, el cual crece fácilmente después de la exposición a este metal.

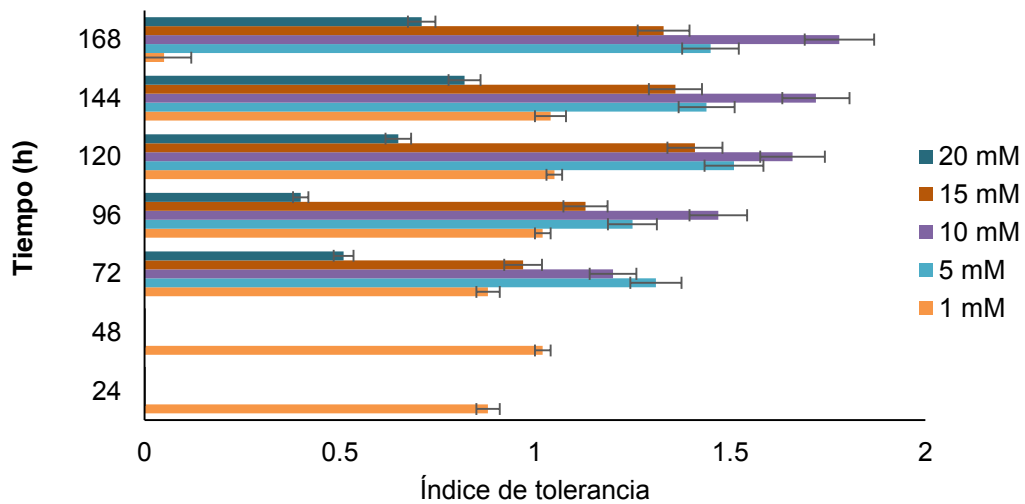


Figura 4. Índice de tolerancia de *Aspergillus niger* a 1, 5, 10, 15 y 20 mM de Pb.

Ezzourhi et al., 2009 encontraron que la CMI para *Penicillium sp.* (S3S) *Penicillium sp.* (S4W), *Penicillium sp.* (S5S), *Fusarium sp.* (S5S), *Aspergillus niger* (S5W) y *Aspergillus niger* (S5S) fue de $12.5 < CMI < 15$, $20 < CMI < 25$, $7.5 < CMI < 10$, $12.5 < CMI < 15$, $20 < CMI < 25$ y $25 < CMI < 30$, respectivamente, siendo todas las cepas de hongos aisladas de sitios contaminados en Tangier, Morocco.

En este trabajo se observó que *A. niger* fue altamente tolerante a 1 y 5 mM de plata, ya que se obtuvieron índices de tolerancia de 0.78 ± 0.04 y 2.03 ± 0.32 , respectivamente. Mientras que, a 10 mM de este metal, no se presentó crecimiento del hongo, por lo que la CMI fue de 10 mM (Tabla 1). En la actualidad no existen muchos ejemplos de hongos tolerantes o resistentes a la plata, sin embargo, se ha visto que *Fusarium oxysporum* reduce iones de plata en solución, dando lugar a una suspensión estable (Singh, 2006). La plata es un metal ampliamente usada en la industria fotográfica, eléctrica, electrónica, química, etc. y su forma soluble al igual que otros metales pesados resulta muy peligroso porque es fácilmente transportada quedando rápidamente disponible para plantas y animales. Para los humanos el envenenamiento con este tipo de metales puede provocar severa disfunción de los riñones, del sistema reproductivo, hígado, cerebro y sistema nervioso central.

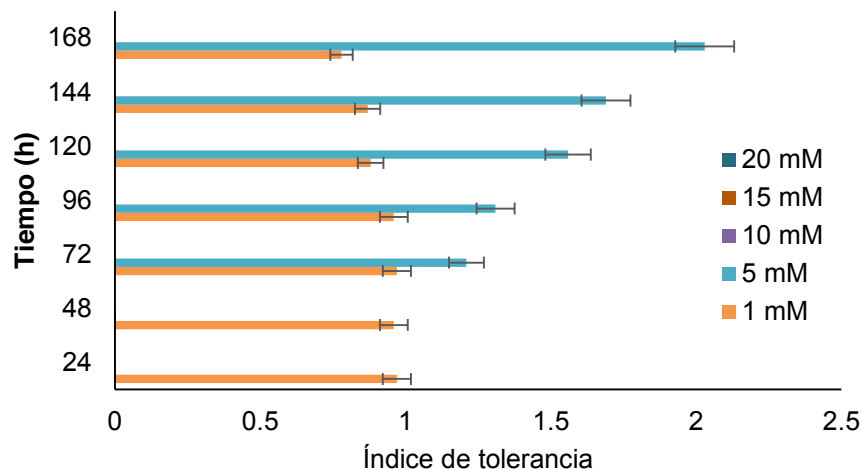


Fig. 4. Índice de tolerancia de *Aspergillus niger* a 1, 5, 10, 15 y 20 mM de Ag.

Para el caso del cobre *A. niger* mostró índices de tolerancia de 0.77 ± 0.08 y 1.18 ± 0.38 a 1 y 5 mM (Fig. 5), respectivamente resultando ser altamente tolerante. Con el resto de las concentraciones no fue posible determinar el parámetro, ya que el medio de cultivo no solidificó por razones desconocidas. Ezzourhi et al., 2009 encontraron valores similares de índices de tolerancia a 1 mM cobre, 0.79, 0.98, 0.91 y 1.0 para los hongos *Penicillium* sp. (S2W), *Penicillium* sp. (S2S), *Fusarium* sp. (S1S) y *Aspergillus niger* (S5W), respectivamente. Según Kermasha et al., 1993, la tolerancia o resistencia de hongos como *Aspergillus niger* al cobre se debe a un activo proceso que involucra la síntesis de una metalotioneína (proteína dependiente del cobre).

A. niger aislado en este trabajo resultó ser altamente tolerante al zinc, ya que se observaron índices de tolerancia de 0.87 ± 0.09 , 0.70 ± 0.15 , 0.88 ± 0.10 , 0.66 ± 0.02 y 0.55 ± 0.01 a 1, 5, 10, 15 y 20 mM, respectivamente después de 7 días de crecimiento (Fig. 6). Dado que a 20 mM se observó un crecimiento importante del micelio del hongo la CMI resulta ser mayor a dicha concentración (Tabla 1). Sintuprapa et al. (2000) sugirieron que el mecanismo de captación de zinc por ciertas especies de hongos filamentosos es el intercambio intra y extracelular en forma de precipitación de polifosfatos. El zinc es esencial para todos los organismos, aunque a altas concentraciones puede volverse tóxico (Balsalobre et al., 2003). Vadkertiova y Slavikova (2006), encontraron que *Pichia anomala*, *Candida krusei* y *Cryptococcus laurentii* toleran altas concentraciones de zinc (por arriba de 20 mM), resultado similar al de este trabajo con *A. niger*.

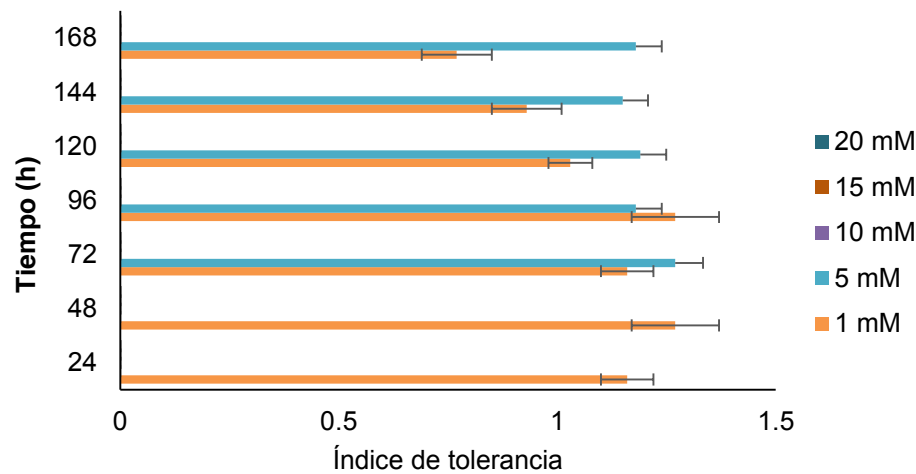


Fig. 5. Índice de tolerancia de *Aspergillus niger* a 1, 5, 10, 15 y 20 mM de Cu.

Castro-Silva et al., 2003 reportaron similares niveles de resistencia de zinc por cepas de levaduras aisladas de minas de carbón. Por otro lado, Levinskaite (2001) demostró que el índice de crecimiento de *P. atramentosum* 25SL disminuyó lentamente a partir de 40 mM de Zn.

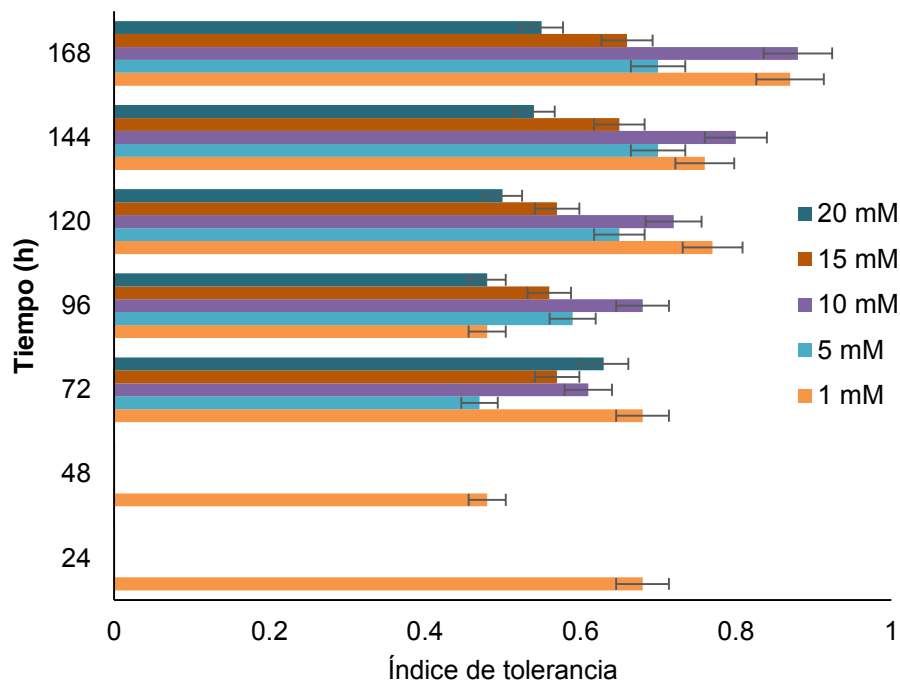


Fig. 6. Índice de tolerancia de *Aspergillus niger* a 1, 5, 10, 15 y 20 mM de Zn.

Para el caso del cromo se encontraron índices de tolerancia de *A. niger* de 1.27 ± 0.06 , 1.49 ± 0.06 , 1.90 ± 0.03 , 1.35 ± 0.01 y 1.30 ± 0.05 para 1, 5, 10, 15 y 20 mM, respectivamente (Fig. 7), es decir fue altamente tolerante y la CMI mayor a 20 mM (Tabla 1). Ezzourhi et al., 2009 observaron valores similares de CMI para especies de hongos como *Penicillium* sp. (S3S) ($20 < \text{MIC} < 25$) y *Fusarium* sp. (S5S) ($20 < \text{MIC} < 25$); mientras que para *Penicillium* sp. (S4W), *Penicillium* sp. (S5S), *Aspergillus niger*

(S5W) y *Aspergillus niger* (S5S) $12.5 < MIC < 15$, $15 < MIC < 20$, $12.5 < MIC < 15$ y $10 < MIC < 12.5$, respectivamente. La detoxificación del cromo por *A. niger* puede ser mediada por un sistema enzimático antioxidante como peroxidasa, catalasa y peróxido ascorbato (Srivastava y Thakur, 2006).

En general el patrón de crecimiento del hongo sugiere el desarrollo de tolerancia y adaptación a la presencia de los metales evaluados. Con 1 mM de cada metal el crecimiento del hongo inició a las 24 h post incubación, mientras que a partir de 5 mM con todos los metales se presentó crecimiento del hongo luego de 72 h de incubación, lo que implica un alargamiento de la fase lag.

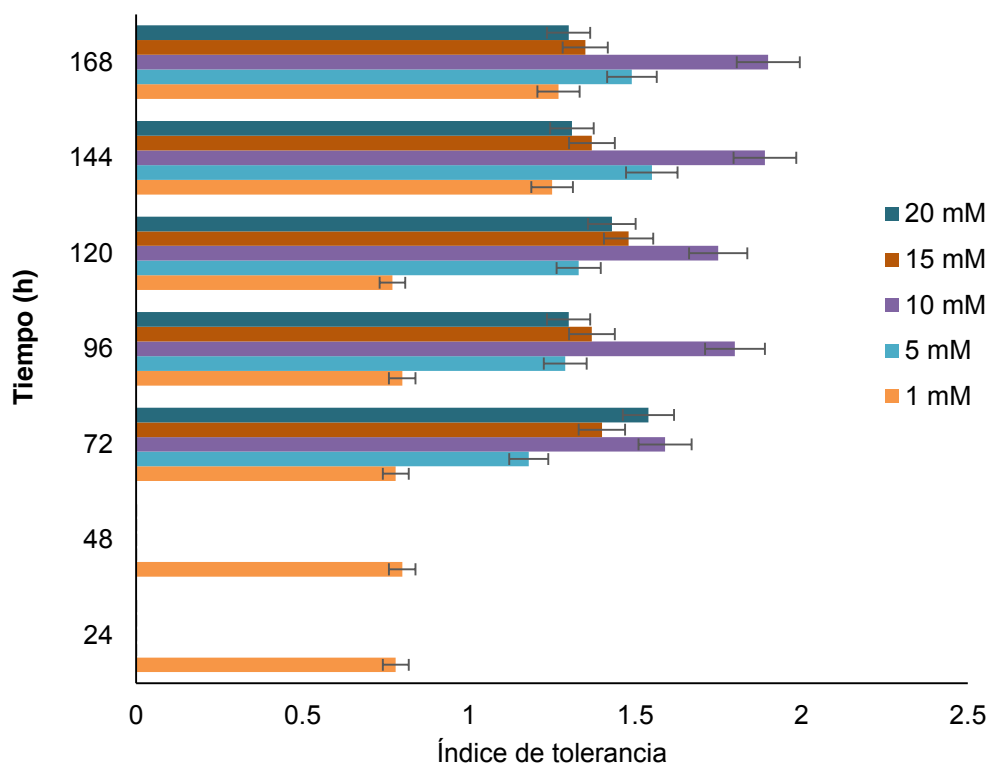


Fig. 6. Índice de tolerancia de *Aspergillus niger* a 1, 5, 10, 15 y 20 mM de Cr.

CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos, podemos concluir que *A. niger* es altamente tolerante en concentraciones de 1 mM y 5 mM a Cr, Cd, Cu, Hg, Ag, Zn y Pb. En cuanto a la concentración mínima inhibitoria se encontró que fue de 10 mM para Ag y 15 mM para el Cd. Para Pb, Zn y Cr la concentración mínima inhibitoria fue mayor a 20 mM, ya que a dicha concentración se observó un fuerte crecimiento del hongo. Por otro lado, cabe mencionar que para los metales Cu, y Hg aún se desconoce la concentración mínima inhibitoria debido que a partir de 10 mM el medio de cultivo no solidificó y por lo tanto no fue posible evaluar el crecimiento del hongo. Finalmente *A. niger* presenta potencial en uso en biorremediación de metales como Cr, Cd, Cu, Hg, Ag, Zn y Pb.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Mudhoo, R. Mohee, "Elements of Sustainability and Bioremediation", in: *Bioremediation and Sustainability* (John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, USA, 2012), pp. 1-41.
2. R. N. Kumavath, P. Deverapalli, "Scientific Swift in Bioremediation: An Overview", in: *Applied Bioremediation - Active and Passive Approaches*. Agricultural and Biological Science, InTech, 2013, pp. 377-396.

3. A. J. Robb III, P. R. Hoggatt, E. P. Mobil, "A Cost effective bioremediation strategy using low technology resources for reclamation of dry land hydrocarbon contamination": A case study. Exploration and Production Environmental Conference. Houston, Texas. March 1995. 978-1-55563-449.
4. M. Megharaj, B. Ramakrishnan, K. Venkateswarlu, N. Sethunathan, R. Naidu, "Bioremediation approaches for organic pollutants: A critical perspective". Environ. Int. 37, 2011, pp. 1362-1375.
5. S. Srivastava, I. S. Thakur, "Biosorption potency of *Aspergillus niger* for removal of chromium(VI)". Curr. Microbiol, Vol, 53, 2006, pp. 232-237.
6. L. Ezzouhri, E. Castro, M. Moya, F. Espinola, "Heavy metal tolerance of filamentous fungi isolated from polluted sites in Tangier Morocco". Afr J. Microbiol Reserch. Vol, 3,2, 2009, pp. 035-048.
7. T. Verma, T. Srinath, R. U. Gadpayle, P. W. Ramteke, R. K. Hans, S. K. Garg, "Chromate tolerant bacteria isolated from tannery effluent". Bioresour. Technol., Vol. 78, 2001, pp. 31-35.
8. G.M. Gadd, "Interactions of fungi with toxic metals". New Phytol, Vol.124,1, 1993, pp. 25-60.
9. A. Malik, "Metal bioremediation through growing cells". Environment International, Vol. 30, 2, 2004, pp. 261-278.
10. H. Hussein, S. F. Ibrahim, K. Kandeel, H. Moawad, 2004. "Biosorption of heavy metals from waste water using *Pseudomonas* sp". Environmental Biotechnology, Vol. 7, 2004, pp. 1- 7.
11. E. M. El-Morsy, "*Cunninghamella echinulata* a new biosorbent of metal ions from polluted water in Egypt". Mycologia, Vol. 96, 6, 2004, pp. 1183-1189.
12. S. Zafar, F. Aqil, I. Ahmad, "Metal tolerance and biosorption potential of filamentous fungi isolated from metal contaminated agricultural soil". Bioresour. Technol., Vol. 98,13, 2007, pp. 2557-2561.
13. A. K. Pandey, A. K. Awasthi, A. Pandey, "Biosorption potential of indigenous fungal strains for municipal solid waste leachate management in Jabalpur city". JECET, Vol. 2,2, 2013, pp. 385-393.
14. B. Thippeswamy, C. K. Shivakumar, M. Krishnappa, "Bioaccumulation potential of *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus* for removal of heavy metals from paper mill effluent". J. Environ. Biol., Vol. 33, 2012, pp.1063-1068.
15. J. H. Joo, K. A. Hussein, "Heavy metal tolerance of fungi isolated from contaminated soil". Korean J. Soil Sci., Fertiliza, Vol. 45,4, 2012, pp. 565- 571.
16. M.J. Melgar, J. Alonso, M.A. Garcia, "Removal of toxic metals from aqueous solutions by fungal biomass of *Agaricusmacrosporus*". Science of the Total Environment, Vol. 385, 2007, pp.12-19.
17. M. L. Abarca, "Taxonomía e identificación de especies implicadas en la aspergilosis nosocomial". Rev. Iberoam. Micol., Vol. 17, 2000, pp. 79-S84.
18. A. Sáez Vega, L. Flórez Valdés, A. Cadavid Rendón, "Caracterización de una cepa nativa de *Aspergillus niger* y evaluación de la producción de ácido cítrico". Revista Universidad EAFIT, Vol. 128, 2002, pp. 33-41.
19. A. Jabbari Nezhad, M. Faezi Ghasemi, A. Khosravan, A. Farahmad, M. R. Shakibaie, "Cadmium biorremediarion by metal-resistant mutated bacteria isolated from active sludge of industrial effluent". Iran J. Environ. Health Sci. Eng., Vol. 7,4, 2010, pp. 279-286.
20. T. M. Roane, L. L. Pepper, "Microbial responses to environmentally toxic cadmium". Microb. Ecol., Vol. 38., 2000, pp. 358-364.
21. L. Perfus-Barbeoch, N. Leonhardt, A. Vavasseur, C Forestier., "Heavy metal toxicity: cadmium permeates through calcium channels and disturbs the plant water status". Plant J., Vol. 32, 2002, 539-548.
22. W. W. Lilly, G. J. Wallweber, T. A. Lukefahr, "Cadmium absorption and its effects on growth and mycelial morphology of the basidiomycete fungus, *Schizophyllum commune*". Microbios., Vol. 72, 1992, pp. 227-237.
23. G. Massaccesi, M. C. Romero M. C., Cazau, A. M. Bucszinsky, "Cadmium removal capacities of filamentous soil fungi isolated from industrially polluted sediments, in La Plata (Argentina)". W. J. Microbiol. Biotechnol., Vol. 18, 4, 2002, pp. 817-820.

24. E. Kurniati, N. Arfarita, T. Imai, "Potential use of *Aspergillus flavus* strain KRP1 in utilization of mercury contaminant". *Procedia Environ Sci.*, Vol. 20, 2014, pp. 254–260.
25. K. S. Low, C.K. Lee, S. C. Liew, "Sorption of cadmium and lead from aqueous solution by spent grain". *Process Biochemistry*, Vol. 36, 2000, pp. 59-64.
26. A. Sanyal, D. Rautaray, V. Bansal, A. Ahmad, M. Sastry, "Heavy metal remediation by a fungus as a mean of lead and cadmium carbonate crystals". *Langmuir*, Vol. 21, 2005, pp. 7220-7224.
27. H. Singh, "Mycoremediation". 1ra. ed. Ed. Wiley-Interscience, New York, EUA, 2006, pp. 592.
28. S. Kermasha, F. Pellerin, B. Rovel, M. Goetghebeur, M. Metche, "Purification and characterization of copper-metallothioneins from *Aspergillus niger*". *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, Vol. 57, 1993, pp. 1420-1423.
29. W. Sintuprapa, P. Thiravetyan, M. Tanticharoen, "A possible mechanism of Zn²⁺ uptake by living cells of *Penicillium sp.*" *Biotechnol. Lett.*, Vol. 22, 2000, pp. 1709-1712.
30. L. Balsalobre, M. I. De Sioniz, M. J. Valderrama, T. Benito, M. T. Larrea, J. M. Peinado, 2003. "Occurrence of yeasts in municipal wastes and their behavior in presence of cadmium copper and zinc". *J. Basic Microbiol.*, Vol. 43, 2003, pp. 185-193.
31. R. Vadkertiova, E. Slavikova, "Metal tolerance of yeasts isolated from wáter". *J. Basic Microbiol.*, Vol. 46, 2006, pp. 145–152.
32. M. A. Castro-Silva, A. O. De Souza Lima, A. V. Gerchenski, D. B. Jaques, A. L. Rodrigues, P. L. De Souza, L. R. Rorig, "Heavy metal resistance of microorganisms isolated from coal-mining environments of Santa Catarina". *Braz. J. Microbiol.*, Vol. 34, 2003, pp. 45-47.
33. L. Levinskaite, "Response of soil fungi to chromium(VI)". *Ekologija*, Vol. 1, 2002, pp. 10-13.
34. S. Srivastava, I.S. Thakur, "Biosorption potency of *Aspergillus niger* for removal of chromium(VI)". *Curr. Microbiol.*, Vol. 53, 2002, pp. 232-237.

AGUA, BIODIVERSIDAD Y PRODUCCIÓN DE ALIMENTOS CON CAMPESINOS RUR-URBANOS

Pedro Ángeles Juárez, Minerva Leonor González Ibarra, Aída del Rosario Malpica Sánchez

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco.

RESUMEN

Anclada al capital financiero internacional, la Ciudad de México a partir de la década de los noventa se constituye una ciudad global. Los flujos de capital transitan por modernas autopistas y la fórmula dinero-mercancía-plus valor, se consolida en los centros como Santa Fe, Interlomas, Polanco – Reforma. La expansión urbana sobre el Suelo de Conservación y la conversión de mano agrícola a industrial amenaza la prestación de servicios ambientales en especial la provisión de agua y alimentos, donde la biodiversidad juega un papel preponderante. Exploramos el uso de técnicas de aprendizaje colaborativo, mezcla de conocimientos técnico – científicos y los propios del campesino. La herramienta didáctica-participativa “Mapa de Recursos” nos permite obtener la identificación de problemas comunes entre pueblos y comunidades, el acceso a los recursos naturales, diagnósticos, pronósticos de su uso y posibles soluciones. La comparación con Google Maps revelan un profundo conocimiento local del nuevo campesinado rur-urbano y la herramienta aporta aprendizajes significativos para la sustentabilidad.

INTRODUCCIÓN

El capital financiero internacional, cambió y cambia constantemente el contexto específico en el cual el campesino se encuentra inserto, la materialización y expresión del capital lo encontramos en las prácticas económicas, políticas, sociales y culturales. Así, la situación actual del campesino se encuentra delimitada por un proyecto civilizatorio mejor conocido como mercado mundial, dicho escenario, nos da la pauta para tratar de entender este proceso y analizar las formas como la globalización económica neoliberal ha impactado las diversas regiones del mundo, afectando la vida de las personas, este proceso, está generando que la sociedad en su conjunto se caracterice, por un profundo cambio. La Gran Transformación de la cual nos hablaba Polanyi (1947) también tuvo lugar al sur de la Ciudad de México, dentro de estas transformaciones las más significativas para el campesino, incluyen por supuesto, aspectos ecológicos y ambientales. El impacto económico sobre los territorios es tal, que provoca que cambien las regiones, los paisajes, la ruralidad y la vida urbana. En la presente investigación, nos enfocamos al espacio territorial del área rural, o suelo de conservación en la Ciudad de México. Se trata de un área rural adyacente a la ciudad conformada por pequeñas ciudades, rancherías, comunidades y pueblos de larga tradición histórica. Los llamados pueblos originarios asentados en la Cuenca de México, ocuparon el anfiteatro montañoso a las orillas del lago de Xaltocan, mucho antes de la llegada de los mexicas. Pueblos del sur de la Cuenca, con una antigüedad de 3000 a 3500 años como los de Tlatilco, Cuicuilco, Copilco, Tetelpan, Xico (Moret,s/f). Herederos de éstos primeros asentamientos, los encontramos en las demarcaciones políticas de Milpa Alta, Xochimilco, Tláhuac, Tlalpan, Magdalena Contreras, pueblos y comunidades cuya toponimia se identifican con el antiguo nombre indígena y el de un santo patrono español: Santa Cruz Acalpíxca, San Nicolás Tetelco, San Nicolás Totolapan, lo ejemplifican. En estos pueblos y comunidades, a lo largo de los años se ha venido conformando un espacio rural que persiste en sus tradiciones, costumbres, formas de gobierno, comunalidad, redes de sociabilidad y actividades productivas asociadas a la producción agropecuaria y forestal. Empero, la especulación inmobiliaria sobre terrenos de vocación agrícola y forestal es quizás una de las mayores amenazas que se ciernen sobre el llamado Suelo de Conservación, como es sabido, en esta área es donde ocurre la recarga de mantos acuíferos que abastecen de agua el casco urbano. Para quienes ahí viven y se dedican a la producción agrícola, ser campesino en la estructura rur-urbana es ser partícipe de una actividad que no solamente produce alimentos, bienes y servicios ambientales, sino que recrea una actividad campesina que une trabajo, tierra y medio ambiente. En las últimas décadas, experimentan, viven y padecen un deterioro extensivo sobre sus espacios rurales. Además de la especulación inmobiliaria y el incremento de viviendas en Suelo de Conservación, deben afrontar una ganadería y agricultura expansiva, quemadas de pasto, el abuso de agroquímicos y la tala clandestina de bosques que disminuyen la capacidad de regeneración y recuperación de estos sistemas socio-ecológicos,

generando un campesinado empobrecido. A pesar de tener un sin número de factores adversos en su contra, nuevas generaciones de campesinos continúan la práctica agrícola y forestal, lo cuál constituye un mecanismo de resistencia para la defensa de su territorio. Ante este panorama, nos preguntamos: ¿Qué herramientas didácticas y pedagógicas deben utilizarse para capacitar a este nuevo campesinado que permita conservar, restaurar y rehabilitar sus sistemas socio-ecológicos de producción y conservación de la agrobiodiversidad y la biodiversidad?

TEORÍA

Tanto en los programas educativos encaminados a la producción agropecuaria, como en los mismos campesinos y agricultores, se promovió desde los años 60, una agricultura convencional de alto costo por el uso excesivo de productos derivados del petróleo y con prácticas que promovían la revolución verde tales como semillas mejoradas, el uso de híbridos, razas mejoradas de ganado, tecnificación e insumos de alto costo económico y ecológico, este modelo, pronto dio al traste a la economía campesina, pues, no podía ni pagar ni sostener ese sistema productivo. Los costos actuales de los agroquímicos denotan su insostenibilidad económica y ecológica. Dicho escenario permite indagar en la búsqueda de técnicas agroecológicas que posibiliten la recuperación de formas tradicionales de producción, que contribuyan al camino hacia la sustentabilidad. Como biólogos comprometidos con la sociedad en la solución de problemas, dentro de nuestra práctica profesional, promovemos con campesinos rur-urbanos, una amplia gama de técnicas conservacionistas y agroecológicas, que en su conjunto forman parte de la agricultura sostenible, lo que se pretende es disminuir los riesgos ante la vulnerabilidad a que están expuestos los sistemas socio-ecológicos donde viven estos campesinos. Si bien, los desastres naturales tales como las sequías, heladas, granizadas, fuertes vientos, tormentas, son considerados como fenómenos ecológicos, el factor humano (las prácticas que hagan o no hagan) determinan el grado de vulnerabilidad a la que están expuestos dichos sistemas agroecológicos. De este modo, la vulnerabilidad encierra un componente ecológico y social, donde, la resistencia (frente a los disturbios) y la resiliencia, dependen de la capacidad del sistema agroecológico para sostenerse y recuperarse a un estado inicial. La resiliencia como atributo del sistema ecológico tiene que ver con la estructura y función del ecosistema; la biodiversidad que ahí encierra adquiere un papel preponderante en especial para la provisión de servicios ambientales. Realizar acciones que favorezcan la resiliencia de los sistemas socio-ecológicos permite disminuir la vulnerabilidad e incrementar su capacidad de resistencia y sustentabilidad. El objetivo que se persigue al transitar a formas agroecológicas de producción es conservar y aumentar la diversidad biológica, conservar y mejorar la fertilidad de los suelos, conservar y generar un uso eficiente del agua, que, al tiempo, permita generar una eco-pedagogía y una educación ambiental en miras a transitar a sociedades sustentables con los actores del medio rural. Lejos de adoptar una postura de expertos, convocamos a un diálogo entre saberes, donde la cosmovisión campesina se constituye en una herramienta que nos permita, planear sobre el uso y rehabilitación de los territorios.

PARTE EXPERIMENTAL

Diseñar instrumentos de capacitación en materia de agroecología permite retomar el enfoque de investigación-acción-participativa (Fals-Borda), esta técnica es más conocida en estudios socioeconómicos con poca experiencia documentada en aspectos ecológicos y agronómicos. Para la capacitación y demostración campesina, consideramos pertinente retomar la experiencia del Movimiento Campesino a Campesino, consistente en el uso de técnicas didácticas que permite recuperar el saber propio del campesino, establecer un diálogo franco, alejado de posturas de poder y de educación bancaria como lo señalara Freire (1972) el campesino no es un receptor pasivo, la didáctica de la educación popular no permite establecer un diálogo constructivista, con el aporte del conocimiento académico y de expertos, de modo que el docente acompaña procesos de capacitación. En el diseño de instrumentos didácticos de la praxis de la agroecología, las prácticas demostrativas en el sitio de las parcelas ocupan un lugar preponderante, así como el uso de insumos locales para la producción de abonos, repelentes e instrumentos de trabajo como el aparato "A". El presente estudio considera las habilidades y conocimientos del campesino, de la observación y su análisis, para abordar temas como la vulnerabilidad/ sustentabilidad, el riesgo/insustentabilidad a la que están expuestos los campesinos a nivel regional. Realizamos talleres - prácticas demostrativas

sobre: Conservación de suelo y agua, elaboración de abonos agroecológicos a partir de residuos urbanos y agrícolas, captación de agua de lluvia, manejo de plagas mediante remedios caseros.

Los pasos que seguimos los enumeramos de la siguiente manera:

- 1) Contextualización local
- 2) Concientización
- 3) Planeación
- 4) Puesta en marcha
- 5) Implementación y evaluación de la experiencia

La herramienta didáctica participativa que permite reflexionar, analizar y actuar sobre el terreno, que apoya la sensibilización, el análisis de soluciones y su puesta en marcha lo constituye el Mapa de Recursos" Geilfus 2002, Espinosa y Paz 2009). El procedimiento se observa en la tabla 1

Tabla 1. Procedimiento para obtener el Mapa de Recursos

Talleres sobre problemática ambiental regional	Acciones
Objetivo:	Diagnosticar el estado ambiental, económico y cultural del campesinado desde su visión.
Temas propuestos (generadores de discusión)	Recursos naturales, usos, problemas ambientales – ecológicos, organización comunitaria
Procedimiento: Elaboración de mapa base de uso de recursos naturales. Exposición de carteles Dialogo sobre los comentarios en plenaria grupal	Formar equipos de trabajo, regionales. Discutir problemática Plasmar en papel Exponer al grupo Retroalimentación buscando alternativas
Materiales	Hojas de rotafolio, marcadores, colores, maskingtape
Tiempo:	60 a 90 minutos elaborar los mapas, Exposición por equipos 20 min Conversación 60 min

Fuente: Elaboración propia con base en Geilfus, 2002, Espinosa y Paz 2009.

RESULTADOS

Representaciones sociales y diagnóstico comunitario.

En el transcurso de dos años, se realizaron 10 talleres con prácticas demostrativas en la elaboración de abonos agroecológicos tales como el Bocashi, Agroplus y composta. El número de asistentes a los talleres van de 20 a 15 participantes por curso. En total el número de participantes es de 150 campesinos y campesinas.

Las problemáticas señaladas por los participantes en estos talleres son: pérdida vegetación natural y con ello la capacidad de recarga e infiltración de agua al subsuelo, establecimiento de asentamientos irregulares y tiraderos de basura, disminución de biodiversidad con aumento de plagas como la tuza y el cacomixtle, cambio en el uso del suelo, deforestación, poco impacto de instituciones administrativas como la PAOT.

Las Delegaciones que conforman el Suelo de Conservación en su porción sur son: Álvaro Obregón, Cuajimalpa de Morelos, Iztapalapa, Magdalena Contreras, Milpa Alta, Tláhuac, Tlalpan y Xochimilco. Aunque desde el año 2000 se consideraba zonificar normativamente actividades agroecológicas, dichas prácticas no se llevaban a cabo, se seguía utilizando la agricultura convencional.

Los participantes de los talleres hacen uso de su memoria y de la colaboración con sus compañeros, elaboran un mapa como si se viera desde el espacio o a manera de transecto, en él plasman el uso de los recursos, simulando un recorrido longitudinal, señalando los aspectos positivos y negativos.

La memoria colectiva juega un papel de suma importancia en la elaboración de los mapas, en ellos los campesinos plasman en primer lugar aspectos geológicos y biológicos del sitio donde viven, donde ubican sus parcelas, pueden determinar los sitios donde se encuentran ciertas especies, algunas de ellas endémicas, identificar los procesos geológicos que dieron lugar a las formaciones

presentes. Permite identificar los usos que han tenido los ecosistemas a lo largo del tiempo, sus formas de tenencia de la tierra: si estuvieron ocupados por Haciendas y su actividad productiva (siembra de trigo, avena, ganado mayor), las formas de dotación al campesinado ya sea mediante usos comunales o por la vía ejidal. En ellos podemos visualizar los procesos de acumulación del capital a nivel local, las marcas que ha dejado el impacto del capitalismo en las diversas regiones. Los mapas nos hablan de la incorporación de estas regiones a la conformación del estado moderno, en la demarcación territorial de las Delegaciones de la Ciudad de México. También nos describen cuales han sido las distintas vías de organización, por las que han transitado los distintos actores rurales, por último, nos permite identificar cuáles han sido las pautas para transitar por los senderos de la conservación y la sustentabilidad. En el papel, los campesinos identifican elementos naturales (pastizal, bosque, humedal), las comunidades bióticas, los elementos construidos (bordos, carreteras, autopistas) el impacto de la actividad humana de interacción con la naturaleza: turismo, tiraderos clandestinos, robos a pequeña escala de productos, la figura 1. Nos muestra el proceso de elaboración de uno de los mapas de uso de recursos.



Figura 1, Ejemplo de un mapa realizado por campesinas de la delegación Milpa Alta, donde representan los elementos relevantes asociados a la producción en sus parcelas y los factores que favorecen o amenazan su producción. Fotografía de los autores.

Por motivos didácticos de la presente exposición, a manera de muestra, ejemplificamos los casos de Tulyehualco en Xochimilco, Santa Ana Tlacotenco en Milpa Alta y San Juan Tepenahuac en Milpa Alta. Las imágenes fueron tomadas durante la impartición de los talleres, en el momento en que los campesinos elaboraban sus mapas y durante la exposición de los mismos. El acompañamiento permanente en la sesión nos permite compartir experiencias, se muestra en la figura 2.



Figura 2. Ayuda para la elaboración de mapas. Imagen de los autores

Tulyehualco: Delegación Tláhuac: las problemáticas expresadas por los campesinos de esta región giran en torno al agua de temporal, sobreproducción, urbanización, ganadería, plagas, falta de apoyo del gobierno local. El esquema es el siguiente fig. 3

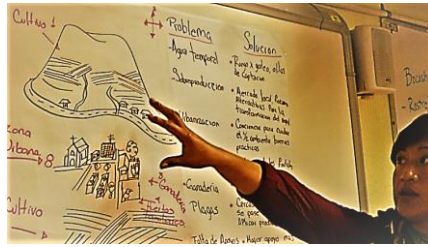


Figura 3 Mapa de Tulyehualco, Tláhuac, con el volcán Teuhtli al fondo, el avance de sembradíos, carreteras. Imagen de los autores.

La figura 4 corresponde a una imagen tomada de Google Maps en ella se muestra en la parte central el volcán Teuhtli, podemos constatar que en efecto una red de carreteras han sido trazadas a su alrededor, cultivos de maíz, amaranto, cubren las laderas norte, la pendiente muy abrupta provoca que cuando llueve, el agua corre por los caminos inundando los pueblos cuenca abajo, esta agua podría captarse en obras de conservación de suelo y agua, como tinas ciegas, zanja trinchera, microcuencas, lo cual permitiría conservar la biodiversidad local.



Figura 4. Imagen de Google maps donde se muestra el avance de la urbanización, al centro el Volcán Teuhtli. A pesar de las pendientes abruptas la urbanización continúa. www.Google.com, abril 2018.

Santa Ana Tlacotenco: Esperanza y Lucía, fueron dos campesinas entusiastas que asistieron a varios de nuestros talleres, el mapa que nos presentan en la figura 4 resalta la deforestación a la que se ha visto sometida la región, solamente en las partes altas del cerro aún se conservan relictos de bosque de encino y pino, la pérdida de prácticas tradicionales, la explotación irracional de los recursos, la instalación de minas de arena y tezontle, la inadecuada educación provoca que la gente más joven de la comunidad no quiera ser ya campesino, fomenta dejar el territorio. Las políticas del estado también influyen en ello señalan. Esto provoca cambio de identidad y la pérdida de valores tradicionales



Figura 5. Santa Ana Tlacotenco, Milpa Alta. Aunque se han colocado ollas de captación de agua, la deforestación, la invasión a suelo de conservación es una constante. Fotografía de los autores.

La vista de Google maps, ocupa la figura 6, en ella podemos apreciar la alta tasa de deforestación, la susceptibilidad de los terrenos agrícolas a la erosión hídrica y eólica, no hay cortinas rompe vientos que protejan la parte norte de las milpas, la pendiente es inclinada por lo cual la lluvia se puede llevar el suelo, por ser de naturaleza forestal los suelos son rojos, cuentan con poca materia orgánica, son tan profundos, la cercanía del bosque le brindaba de manera natural nutrientes, pero las milpas se ven un tanto cansadas. Los cultivos de espinaca ocupan alta cantidad de agua, aunque se han realizado ollas de captación de agua de lluvia es necesario que se realicen reforestaciones con especies arbustivas propias del lugar.



Figura 6, Imagen Tomada de Google maps, Santa Ana Tlacotenco, en el camino a Oaxtepec, frente a la antigua gasolinera. Se observan manchones de bosque de encino

San Juan Tepenahuac: Realizar los mapas no siempre es fácil, pues hay resistencias por parte de alguno de los participantes. ¿Eso para qué?, parece que estamos en el kínder, llegan a afirmar. Generar empatía y colaboración no es fácil, se requiere del dialogo y ayuda de otros campesinos es posible romper dicha apatía. En la figura 7, campesinos de Milpa Alta nos muestran a manera de transecto, la situación que ocurre en su predio, la deforestación, la construcción de caminos, si bien ayudan a sacar las cosechas, también son la vía por la que algunos campesinos toman un camino sin retorno. La renta de terrenos para la siembra de papa por compañías trasnacionales, ha generado el abuso de agroquímicos, así como mayor sequía en las parcelas.



Figura 7 Campesinos muestran su mapa de recursos en la forma de un transecto, señalan los cuerpos de agua, la zona de milpas y la zona forestal. Fotografía de los autores.

La imagen (Figura 8) en Google maps es la siguiente:



Figura 8, Imagen de San Juan Tepenahuac, Google maps, abril 2018.

DISCUSION

Este tipo de instrumentos nos permiten realizar un diagnóstico comunitario y regional de forma rápida, al tiempo que fomenta la participación de los distintos actores rurales en la toma de decisiones, contribuye a concientizar a los usuarios de los distintos ecosistemas, sobre la forma como han sido modificados por el impacto del hombre. El análisis de cada uno de los mapas nos indica la degradación ecosistémica, que padecen las regiones adyacentes a la ciudad de México, la importancia biológica de esta zona es que aun alberga el 2% de la biodiversidad mundial, el alto número de especies endémicas representativas del sitio está en riesgo, en caso de continuar con la misma tendencia en corto tiempo podrían desaparecer. México como país ha carecido de una política de restauración ambiental, no solamente se trata de realizar esfuerzos en torno a la reforestación y plantar árboles donde no los hay, pues si bien contribuyen en parte a limpiar el aire, captar contaminantes, permitir la recarga de acuíferos, se debe procurar no solo la salud de los humanos y la salud de los ecosistemas. En la estructura y función de los ecosistemas, pasar de tener sitios degradados a estados de recuperación y restauración es un reto para los profesionales y para quienes ahí viven.

CONCLUSIONES

El uso de mapas cognitivos elaborados por las mismas comunidades y los usuarios de los distintos ecosistemas nos permiten:

Identificar problemas comunes: se identifican problemas que requieren atención e intervención de profesionales, establece en forma preliminar a escalas espacio-temporales de intervención.

Diseño de estrategias experimentales: se desarrollan estrategias experimentales de intervención con comunidades campesinas para la resolución de problemáticas reales.

Generación de propuestas y técnicas de gestión ambiental. Con los resultados obtenidos se proponen estrategias y técnicas eficientes y socialmente aceptables.

La exposición en plenaria de los carteles, al resto de sus compañeros, como estrategia didáctica, permite denunciar abusos, carencias, irregularidades, por momentos, el taller adquiere la forma de foro.

Es una herramienta altamente recomendable, altamente educadora.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Escobar, Territories of difference, place, movements, life, redes. Duke University Press, 2008, pp. 27-254.
2. B. Canabal. "introducción: El agua en el sur de la Ciudad de México: disputa y conflictividad social" en El agua en los pueblos del sur de la ciudad de México. B. Canabal y E. Narchi, UAM, Plaza y Valdés, Red Águila, México, 2014, pp 13-26
3. E. Excurra, De las chinampas a la megalópolis, FCE, México, 1990.
4. G. Espinosa y L.P. Paredes, Metodología participativa para el diagnóstico socioeconómico de regiones rurales, UAM-X, SEDEREC, 2004, pp. 23-77.
5. Morett, J. Campesinos: identidad y persistencia en el área periurbana de la ciudad de Mexico, mimeo, sociología rural, UACH, s/f
6. K. Polanyi, La Gran Transformación, FCE, Mexico, 1947.

DETERMINACIÓN DE OCRATOXINA A EN MUESTRAS DE CERVEZA COMERCIALIZADA EN MORELIA MICHOACÁN.

Wilmer Castillo Najar, Virginia A. Robinson Fuentes

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

RESUMEN

La ocratoxina A (OTA) es una toxina producida por especies fúngicas pertenecientes a los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*. Se reporta la presencia de esta toxina en productos alimenticios como cereales (Maíz, trigo, cebada) y productos derivados, productos de molienda (café, cacao) frutas secas y bebidas alcohólicas (vino y cerveza). La OTA representa un riesgo a la seguridad alimentaria pues se sabe que el consumo crónico de pequeñas cantidades puede tener efectos carcinogénicos, hepatotóxicos, inmunosupresores, neurotóxicos y teratogénicos. En este estudio se buscó conocer la presencia y la concentración de OTA en cervezas comercializadas en Morelia Michoacán. Veintinueve cervezas de diferentes marcas comerciales incluyendo cervezas de fabricación artesanal fueron analizadas mediante un kit inmunoenzimático (ELISA) marca Helica (Cat: 9810CH01ALC-96). La presencia de OTA en las muestras fue del 100%; las cervezas oscuras presentaron los valores promedio de OTA más altos ($1.162 \pm 0.44 \mu\text{g/kg}$), seguido de las cervezas light ($1.057 \pm 0.38 \mu\text{g/kg}$) y por último las cervezas claras ($0.825 \pm 0.23 \mu\text{g/kg}$) las cuales presentaron el nivel promedio más bajo de OTA. En cuanto la presencia de OTA en cervezas artesanales, la concentración se encontró por arriba de lo presentado en cervezas de producción industrial. Ninguna de las muestras de cerveza comercializadas en Morelia Michoacán supera los límites permitidos por la U.E.

INTRODUCCIÓN

La cerveza es una bebida alcohólica, producto de la fermentación alcohólica de la cebada y otros cereales, con un contenido alcohólico que va del 4% al 8%. Contiene alrededor de dos mil componentes entre los cuales se destacan carbohidratos, fibra soluble, minerales, elementos traza (fosforo, silicio, potasio y magnesio), vitaminas del grupo B y compuestos secundarios vegetales como polifenoles¹. Es por estas razones que el consumo moderado de bebidas fermentadas como la cerveza y el vino pueden formar parte de una dieta saludable como sucede en los países mediterráneos. La Sociedad Española de Nutrición Comunitaria incluye el consumo moderado de estas bebidas². De igual manera en los Estados Unidos el Departamento de Agricultura la propone como parte de la dieta de adultos mayores sanos³.

La cerveza es la tercera bebida más consumida en el mundo después del agua y el té. En América latina se registra un consumo del 16.21% de la producción mundial de cerveza; actualmente, México se posiciona como el séptimo país productor de cerveza en una lista que incluye 125 países, el principal exportador y el décimo quinto importador de cerveza. En América Latina, México es el tercer lugar en consumo de cerveza, 60 litros al año por persona, con una preferencia del 92% de cervezas claras y 8% de cervezas oscuras^{4,5}.

La cerveza, como otros productos derivados de cereales, son susceptibles a la presencia de micotoxinas, las cuales son metabolitos secundarios producidos por hongos comúnmente durante el periodo de almacenamiento de los granos, lo anterior debido a malas prácticas de almacenamiento, de entre las cuales destacan el Deoxydivalenol, zearalenona, Aflatoxinas y Ocratoxina A⁶.

El consumo de alimentos y bebidas contaminados con micotoxinas como la Ocratoxina A, puede traer diversas afectaciones a la salud de humanos o animales, de entre las cuales destacan daños renales, hepáticos y la formación de cáncer⁷.

TEORÍA

La ocratoxina A es una toxina producida por hongos de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, siendo los principales responsables *Aspergillus ochraceus* en climas tropicales y *Penicillium verrucosum* en regiones de clima frío. La mayoría de estos hongos producen principalmente Ocratoxina A y raras veces Ocratoxina B⁸. Se reporta la presencia de OTA en diversos alimentos: cereales (maíz, trigo, sorgo y cebada) productos de molienda como el café y el chocolate, frutas secas, legumbres, productos cárnicos, embutidos y bebidas alcohólicas como el vino de mesa y la cerveza. Estos

productos son susceptibles a contaminación y constituyen fuentes dietéticas a considerar sólo en caso de altas ingestas⁹.

La estructura molecular de OTA presenta un anillo de 3,4- di-hidro metil isocoumarina unido a una molécula de fenilalanina por medio de su grupo carboxilo y través de un enlace tipo amida Fig.1. Es una molécula estable, incolora, soluble en disolventes orgánicos polares, poco soluble en agua, con características de ácido débil y capaz de emitir fluorescencia al ser excitada con luz ultravioleta¹⁰.

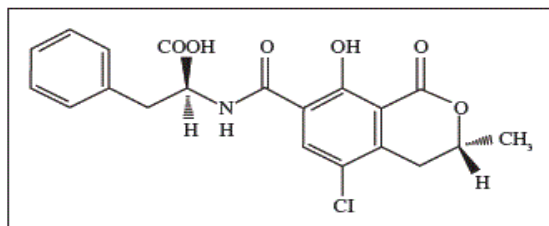


Figura 1.- Estructura química de OTA

Los efectos tóxicos de la OTA son diversos dependiendo del tipo de exposición. Las afectaciones por la exposición crónica causa daño a órganos como los riñones, hígado, sistema nervioso central; además, la OTA puede atravesar la barrera placentaria y tiene actividad mutagénica. Es considerada un gran riesgo carcinogénico para el humano, clasificada en la categoría 2B de la Agencia Internacional de Investigación contra el Cáncer (IARC), como posible carcinógeno humano¹¹.

La presencia de OTA en la cerveza corresponde directamente a la presencia en las materias primas utilizadas en su elaboración (cebada y otros cereales), si bien algunos estudios reportan la disminución de la concentración de OTA a través de los diferentes pasos en el proceso de elaboración de la cerveza la eliminación solo es parcial reportando del 2% a 13% del contenido inicial de OTA. Los datos antes mencionados no incluyen a la creciente industria de las cervezas artesanales las cuales han tenido una gran popularidad en años recientes y se han comenzado a posicionar en el gusto de la población¹².

La regulación del contenido de esta micotoxina por parte de las normas pertenecientes a la Unión Europea para la cerveza es inexistente; no obstante, diversos autores han utilizado como referencia los recomendados para vinos, el cual es de 2 µg/kg¹³. La ingesta diaria OTA por el consumo de cerveza no representa un factor importante para la exposición a OTA; sin embargo, si es una fuente adicional del consumo total en la dieta¹⁴.

La Unión Europea es líder en la investigación en materia de micotoxinas presentes en alimentos en los cuales se incluyen bebidas de fermentación como la cerveza. Evaluando las concentraciones de OTA permitidas en los diferentes productos con el fin de disminuir las afectaciones a la salud de la población. La información en México respecto a la incidencia y los niveles de contaminación por micotoxinas en alimentos está limitada por muchos factores; los recursos disponibles para realizar investigaciones, la capacidad de los laboratorios para llevar a cabo el análisis, lo adecuado de los procedimientos de muestreo y la sensibilidad de los métodos de cuantificación utilizados. En nuestro país la Norma Oficial Mexicana 093, sobre el manejo, calidad e higiene de establecimientos que ofrecen alimentos, solo se establecen límites para coliformes fecales y mesofílicos aerobios, la reglamentación exige que se lleven a cabo estas determinaciones microbiológicas; sin embargo, para micotoxinas solo se puede encontrar la NOM- 188-SSA1-2002, la cual se encarga de regular la cantidad de aflatoxinas en cereales para consumo humano y de animales, mas no se hace mención alguna a otras micotoxinas, como la OTA.

En este trabajo se busca conocer la presencia de OTA en cervezas comercializadas en la ciudad de Morelia, Michoacán, México, así como la concentración de ésta en dicho producto con el objetivo de incrementar los reportes de su incidencia y concentración en productos comercializados en México.

PARTE EXPERIMENTAL

Las muestras de cerveza fueron obtenidas en diferentes puntos de venta y centros comerciales de la ciudad de Morelia Mich. Con un total de veintinueve cervezas, de las cuales diez y siete fueron claras, cinco light y siete oscuras. Se obtuvieron también dos muestras de cervezas importadas,

una clara proveniente de Estados Unidos y una cerveza Premium Alemana, también se incluyeron en el estudio cuatro cervezas de elaboración artesanal (dos claras y dos oscuras).

Para llevar a cabo la extracción de la OTA, se tomaron 150 ml de cada muestra de cerveza para ser desgasificada agitando la muestra con un agitador magnético durante 15 minutos para después sonicar con un sonicador BRANSON® por 10 minutos; posteriormente se diluyeron en proporción 1:2 con metanol absoluto y se mantuvieron en refrigeración a 4°C, hasta el día de la prueba de ELISA, la cual se realizó siguiendo las instrucciones del Kit comercial Helica® con código de registro CAT.NO.9610CH01ALC-96.

RESULTADOS

Las muestras de cerveza analizadas presentaron una incidencia de OTA del 100% sin diferencias entre el tipo de cerveza (clara, oscura o light). Los datos de las concentraciones y los valores mínimos y máximos se presentan en la Tabla 1.

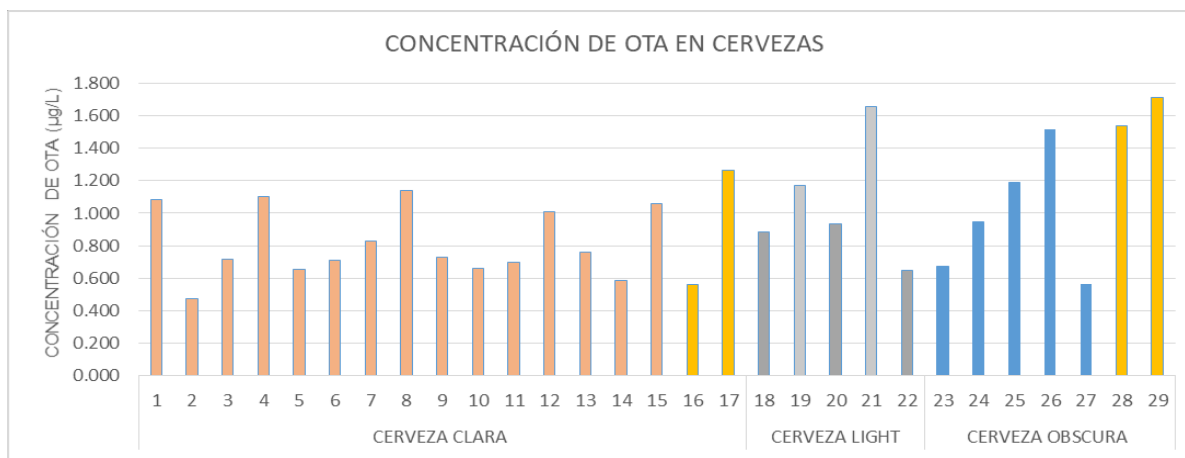
Tabla1.- Resultados del análisis de la incidencia de OTA en cervezas.

	Incidencia	Concentración promedio (µg/L)	Mínimo (µg/L)	Máximo (µg/L)
CERVEZA CLARA	100%	0.825 ± 0.23	0.471	1.51
CERVEZA OSCURA	100%	1.162 ± 0.44	0.562	1.7
CERVEZA LIGHT	100%	1.057 ± 0.38	0.647	1.62

Las muestras que presentan mayor nivel de contaminación promedio son las cervezas oscuras, seguidas de las muestras de cerveza light y por último las cervezas claras, ninguna de las muestras analizadas en este estudio se encontró por arriba del límite de concentración propuesto de máximo 2 µg/L tomado de la norma de la U.E que regula el contenido máximo en vinos.

En la figura 2 se muestran las diferentes cervezas analizadas y su concentración de OTA. Las barras en color amarillo indican las muestras correspondientes a cervezas de producción artesanal, de las cuales 3 presentaron concentraciones de OTA más altas a sus respectivos grupos, dos en el grupo de las cervezas oscuras (28: 1.535µg/L, 29: 1.71µg/L) y una en el grupo de las cervezas claras (17: 1.265µg/L,). La tecnificación en los procesos de producción así como el acceso a materias primas de mayor calidad que aseguran la inocuidad de sus productos pueden ser factores por los cuales la cervezas de producción industrial presenta concentraciones más bajas de OTA.

Figura 2. Concentración de OTA en cervezas.



La cerveza light poco a poco ha ido ganando terreno en el gusto de los consumidores, lo cual ha abierto el mercado a productos nacionales para competir con los importados, incrementando la

disponibilidad al público y su producción, las muestras 18, 20 y 22 corresponden a cervezas light importadas las cuales presentan concentraciones de OTA más bajas en comparación de las nacionales. Sin embargo, no solamente ocurre esto en el grupo de la cerveza light, de manera general las cervezas nacionales presentan una concentración promedio más alta ($0.96 \pm 0.35 \mu\text{g/L}$) en comparación con las muestras de cervezas importadas analizadas en este estudio ($0.82 \pm 0.18 \mu\text{g/L}$).

CONCLUSIONES

- La presencia de Ocratoxina A fue positiva en el 100% de las cervezas analizadas, ninguna de las cervezas excedió el límite de concentración de OTA ($2 \mu\text{g/L}$) de la U.E que se han utilizado como referencia en este estudio.
- Las muestras de cerveza de elaboración industrial presentan un menor promedio de concentración de OTA en comparación con las muestras de elaboración artesanal.
- Las muestras de cerveza de importación que se comercializan en la ciudad de Morelia, Michoacán. Presentan menor contenido de OTA que las muestras de cerveza nacional.
- Es necesario seguir con las evaluaciones del contenido de OTA en alimentos comercializados en México, así como tener especial atención en el consumo, producción y reglamentación de los productos que sobrepasan los límites permitidos.

BIBLIOGRAFÍA

1. M. González-Gross, M. Lebrón, A. Marcos, "Revisión bibliográfica sobre los efectos del consumo moderado de cerveza sobre la salud", Ed, Centro de Información cerveza y salud. Madrid, 2000.
2. SENECA, "Guía de la alimentación saludable, Madrid", 2004, disponible en: <http://www.nutricioncomunitaria.org/es/noticia-documento/19>.
3. USDA, "Dietary Guidelines for Americans", 2000, disponible en: https://www.cnpp.usda.gov/sites/default/files/dietary_guidelines_for_americans/2000DGCo_mmitteeReport.pdf.
4. Kirin Institute of Food and Lifestyle, "Global beer consumption by country in 2010". (Report.33, 2010), Disponible en: http://www.kirinholdings.co.jp/english/news/2011/1221_01.html, última actualización: 21 de diciembre de 2011.
5. Secretaría de Economía, "Industria de la cerveza en México", junio 2015. Disponible en: <https://www.gob.mx/se/articulos/industria-de-la-cerveza-en-mexico>.
6. B.K. Ikalafeng, "Microbiota and mycotoxins in traditional beer of the greater Kimberley area and associated brewing and consumption practices", Bloemfontein: Central University of Technology, Free State, 2008.
7. FAO, "Manual sobre la aplicación del sistema de Análisis de Peligros y de Puntos de Críticos de Control (APPCC) en la prevención y control de las micotoxinas", Estudio FAO Alimentación y Nutrición, Roma, 2003, no 73.
8. A. Méndez-Albores, y E. Moreno-Martínez, "Las micotoxinas: contaminantes naturales de los alimentos". Julio-Septiembre. Revista ciencia de la academia mexicana de ciencias. Comunicaciones libres, 2009, pp.1-7. <http://revistaciencia.amc.edu.mx/online/619-Albores%20Micotoxinas.pdf>
9. S. Duarte, A. Peña, C. Lino, "A review on Ochratoxin A occurrence and effects of processing of cereal and cereal derived food products", Food Microbiology., Vol. 27,2, 2009, pp. 187-198.
10. R. Blanco, M. Pavón, I. González, T. García, M.R, Martín, "Detección de Ocratoxina A en higos secos utilizando el anticuerpo MAP1 y una técnica de ELISA competitiva", Revista Complutense de Ciencias Veterinarias. Vol.2, 1, 2007, pp. 246-252.
11. L. Haighton, B. Lynch, B. Magnuson, E. Nestmann, "A reassessment of risk associated with dietary intake of ochratoxin A based on a lifetime exposure model". Critical Reviews in Toxicology., Vol. 2, 42, 2012, pp. 147-168.
12. A. Ravelo, C. Rubio, A.J, Gutiérrez, A. Hardisson, "La Ocratoxina A en alimentos de consumo humano", Nutrición Hospitalaria. Vol. 6, 26, 2011, pp. 1215-1226.

13. A. López de Cerain, A.M, Jiménez, O. Ezpeleta, J. Bello, "Efectos tóxicos de la Ocratoxina", *Critical Review in Toxicology*, Vol. 17, 2000, pp. 61-69.
14. J. Bellver, "EVALUACIÓN DEL RIESGO DE EXPOSICIÓN A OCRATOXINA A". Tesis Doctoral, Burjassot, 2013. Disponible en: <http://roderic.uv.es/bitstream/handle/10550/29083/TESIS%20Julia%20Bellver.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

MODIFICACIÓN QUÍMICA DEL ALMIDÓN DE PLÁTANO MACHO (MUSA PARADISIACA L) CON POLIETILENO MONOALCOHOL PARA LA OBTENCIÓN DE UNA MATERIAL FUNCIONALIZADO

Hernández Mota-Carmen María Estefanía*, Ramírez Hernández-Aurelio, Zapot Hazas-Fernando.

Universidad del Papaloapan, Campus Tuxtepec, Circuito Central #200, Col. Parque Industrial, San Juan Bautista Tuxtepec Oaxaca CP.68300

RESUMEN

La contaminación ambiental (fundamentalmente la visual) ocasionada por los polímeros derivados del petróleo como la generada por el polietileno está aumentando cada día. Por tal motivo a nivel mundial se busca alternativas para competir con estos materiales, tal es el uso de materiales naturales biodegradables, por ejemplo, el almidón. Sin embargo, los materiales a partir de solo almidón presentan ciertos inconvenientes como bajas propiedades mecánicas y son hidrofílicos, por lo cual, en este trabajo se realizó la modificación química del almidón de plátano macho (musa paradisiaca L.) con polietileno monoalcohol mediante una reacción de injerto por el método de masa sobre la superficie de los gránulos para la obtención de un material funcionalizado y así de esta manera mejorar las propiedades mecánicas del almidón y a la vez generar un material con alto potencial de compatibilidad con el polietileno de posconsumo. La caracterización química por espectroscopia de infrarrojo, por análisis térmico gravitacional y resonancia magnética nuclear de ^1H tanto del almidón nativo así como el almidón modificado mostro que se obtuvo el copolímero injerto almidón-g-PEOH. Los espectros de infrarrojo presentaron datos de solapamiento de enlace C-O en 1100 a 1200 cm^{-1} . El análisis térmico presento desplazamientos de la temperatura de descomposición debido a la modificación química del almidón. Por RMN se aprecia con claridad a δ 4.45 ppm la señal del enlace químico entre estos dos polímeros. Además esta técnica instrumental permitió elucidar la estructura química del copolímero injerto almidón-g-PEOH

Palabras clave

Almidón; Polietileno; Compatibilizante; Injerto; Funcionalizado.

INTRODUCCIÓN

Reportes actuales de la INEGI, en los últimos años, explican que el crecimiento de la población es considerado de manera exponencial, lo cual ha ocasionado que las necesidades de las personas aumente, generando que las industrias de materiales plásticos (por mencionar a los del polietileno) se den a la tarea de la explotación de los recursos naturales, para la generación de estos materiales plásticos ^{1,2}.

Por su parte el polietileno (PE) es uno de los termoplásticos más importantes, se reporta que en el 2017 su producción es de 21.34 millones de toneladas ². Estos debido a las buenas propiedades tanto físicas como químicas lo cual lo hacen ser muy atractivos, para la mejora de la calidad humana. A pesar de eso posee ciertas desventajas como su poca biodegradabilidad provocando graves problemas ambientales y de salud ^{3,4}.

Una de las alternativas, propuestas por los científicos es la modificación química o física de polimeros sintéticos con naturales como el caucho, celulosa y el almidon ⁴

Este último carbohidrato compuesto químicamente de amilosa y amilopectina, que puede ser extraídos de cereales, tubérculos y frutas. La proporción de amilosa y amilopectina; que se encuentra en el granulo del almidon de esta le da ciertas características fisicoquímicas y la de sufrir modificaciones químicas ⁵. Actualmente en la literatura solo se reportan trabajos donde han usado fuentes convencionales de almidon proveniente de papa y maíz mediante modificaciones físicas reacciona con PE ^{6,7}, pero el problema radica debido a su poca compatibilidad del almidon y del polietileno, debido al que el primero es hidrofílico y el segundo hidrofóbico. Una de las soluciones a este problema es la síntesis de un compatibilizante o un material funcional.

Por lo cual, en este trabajo se realizó la modificación química del almidón de plátano macho (musa paradisiaca L.) con polietileno monoalcohol mediante una reacción de injerto por el método de masa sobre la superficie de los gránulos para la obtención de un material funcionalizado y así de esta manera mejorar las propiedades mecánicas del almidón y a la vez generar un material con alto potencial de compatibilidad con el polietileno de posconsumo.

PARTE EXPERIMENTAL

Síntesis del copolímero injerto almidón-g-PEOH: En un vial de vidrio de 10 ml se colocó almidón de plátano macho (0.5 g) y de PEOH (0.05-1.0 g), con agitación constante. Una vez terminado el tiempo de reacción, el producto obtenido se le realizó lavados con 3 mL hexano y con 3 mL tolueno, para eliminar el PE-OH que no reaccionó. En seguida, el producto se filtró y se colocó en un horno para su secado a una temperatura de 45 °C durante un tiempo de 90 minutos. Esta metodología se repitió por duplicado. La determinación del rendimiento de conversión en masa del copolímero injerto obtenido por la modificación química del almidón con PEOH se obtuvo a partir de la ecuación (1).

$$\text{Mass conversion percentage} = \frac{m_2}{m_1} * 100 \quad (1)$$

Donde m_2 es la masa final y m_1 es la inicial.

RESULTADOS

Espectroscopia de infrarrojo (FTIR)

En la Figura 1 se muestra el espectro de infrarrojo del almidón modificado variando la concentración de AN y PEOH.

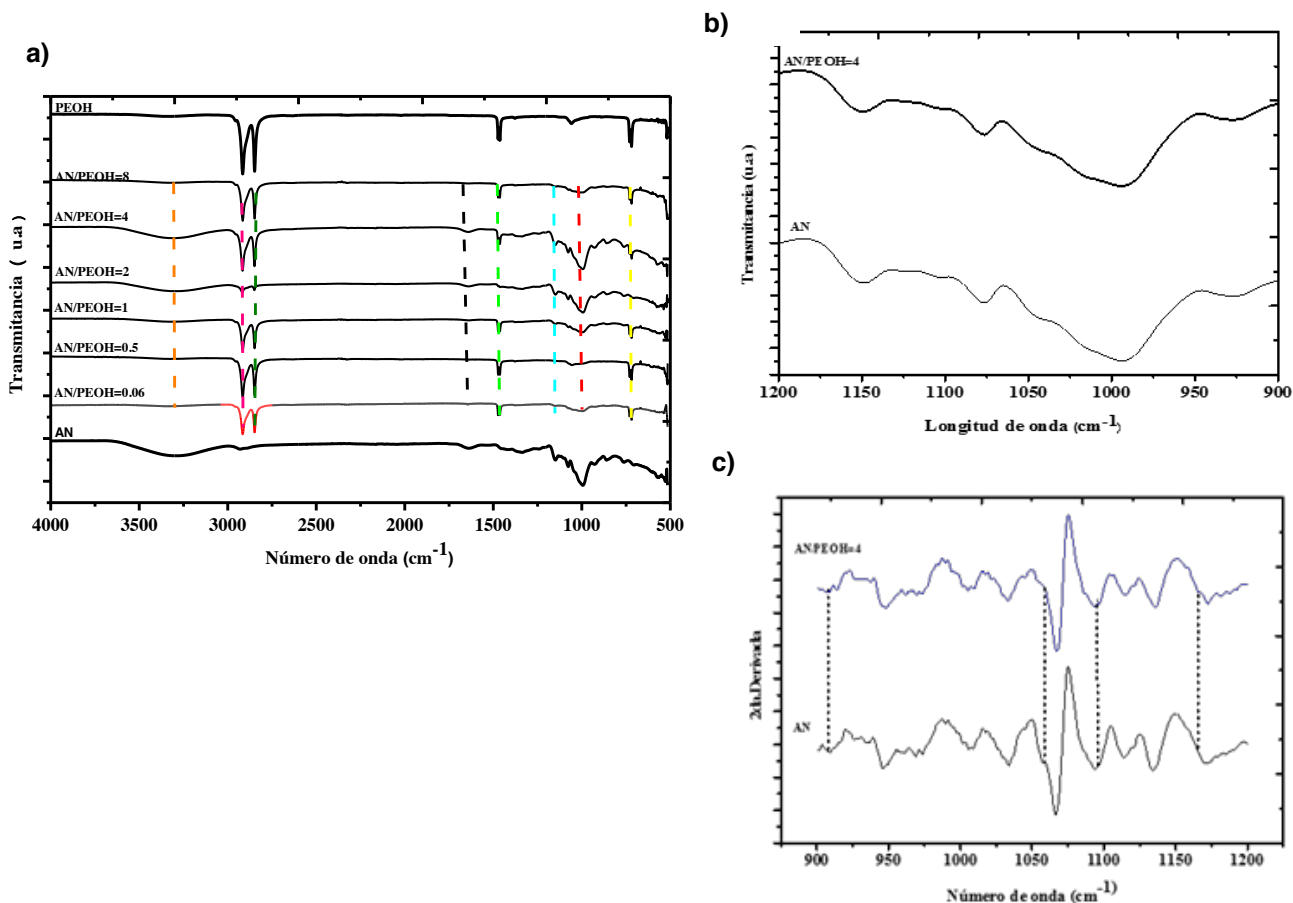


Figura 1. Espectros de FTIR a) copolímero almidón-g-PEOH obtenido por el método en masa variando la relación en masa AN/PEOH, b) zoom 900-1200 cm⁻¹ y c) 2da. derivada.

En los espectros de FTIR (Figura 1a), del almidón modificado se observan aumento o disminución en las intensidades de las señales de vibración al variar la relación en masa de AN/PEOH. Así como

las señales características de acuerdo a lo reportado ^{8,9} de los dos polímeros de partida es decir el AN y el PEOH, esto nos sugiere que todos los productos modificados contiene a ambos polímeros. Las intensidades de ambos aumenta hasta una relación igual a AN/PEOH= 4. Para valores mayores de relación en masa AN/PEOH, las intensidades disminuyen tal como se observa para la relación en masa AN/PEOH=8. Se esperaba una señal nueva debido a la interacción de AN con PEOH a 900-1200 cm^{-1} pero, al observar el espectro no se logra apreciar nada, por lo que se le realizó un zoom (Figura 1b), de igual forma sigue sin observarse un cambio. Sin embargo, al obtener la segunda derivada de los espectros de FTIR, tanto del almidón nativo (AN) y el almidón modificado AN/PEOH=4 (Figura 1c), se logra apreciar que si hubo cambios en las señales de vibración, los cuales se indican con las líneas punteadas en la (Figura 1c) Por lo tanto, se concluye que existe una interacción química entre el almidón nativo y el polietileno monoalcohol, este resultado nos indica que la señal esperada del enlace químico -C-O entre ambos polímero esta sobrelapada con la señal de vibración del enlace C-O del propio almidón.

Análisis termogravimétrico (Tga)

El resultado del análisis termogravimétrico del almidón modificado se observa en la Figura 2, se puede apreciar que para el caso del almidon (Figura 2a) el almidon presenta dos degradaciones a 76 °C y 330 °C, las cuales están reportadas que corresponde al almidon y el agua presente en él. Representado esta el 7 al 81% de la masa del almidón, quedando el 12 % de su masa residual (cenizas y lípidos). Para el caso del PEOH, este se degrada completamente a 450 °C similar a lo reportado ¹⁰⁻¹¹ Figura 2a.

Para el almidón modificado este presenta tres temperatura de degradación y esto se observa al obtener la primera derivada del porcentaje de masa con respecto a la temperatura Figura 2b.

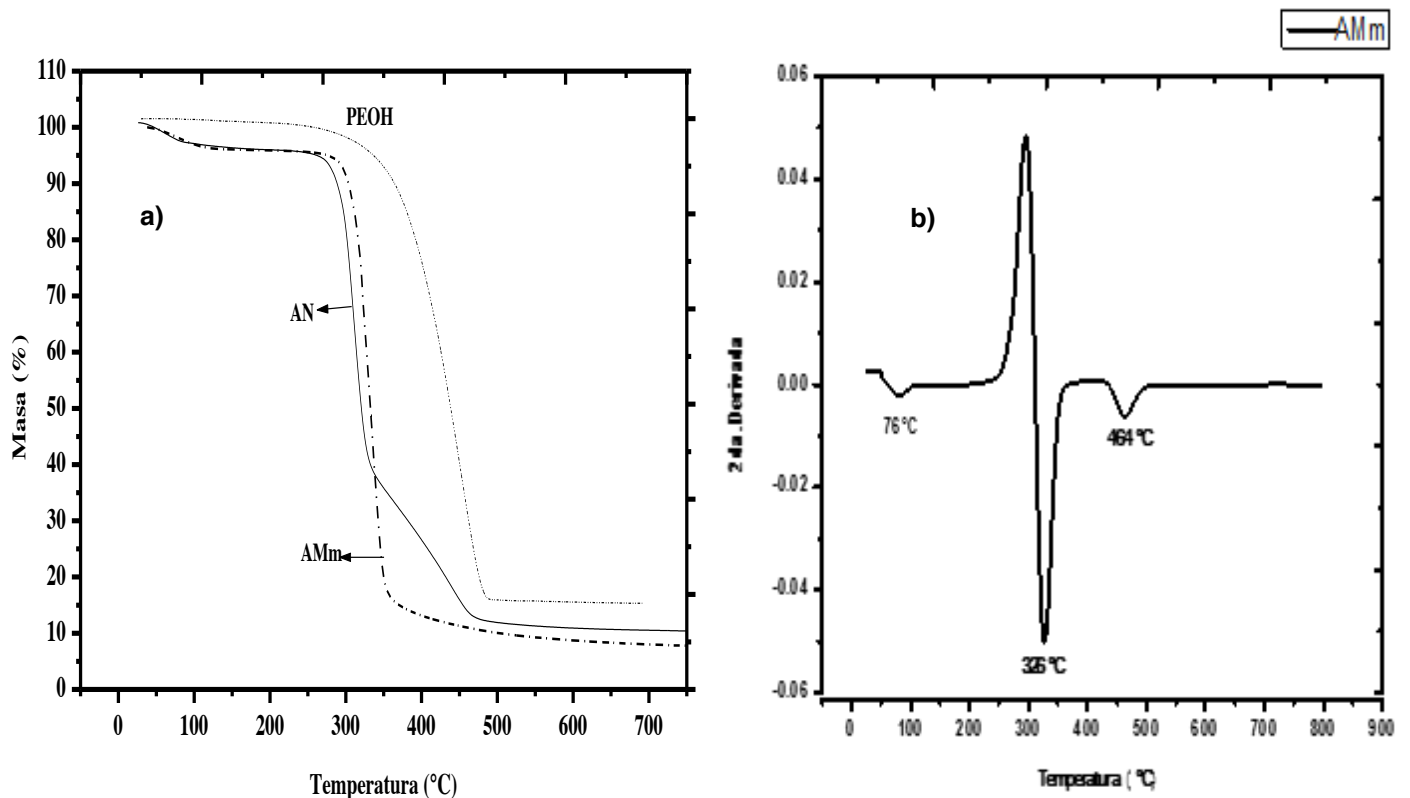


Figura 2. Termograma de TGA del almidón, del PE y del almidón modificado.

Las tres especies del almidón modificado por el método de masa (AMm) se descompone a 76 °C, 316 °C y 430 °C, las cuales corresponde a temperatura de degradación del agua, almidón y PEOH.

El almidón disminuyó su temperatura de degradación 14 °C y el polietileno monoalcohol 20 °C; esto nos indica que se obtuvo un material térmicamente más estable a los de partida.

Resonancia magnética nuclear (RMN)

La elucidación estructural, del almidón modificado se realizó por espectroscopia de resonancia magnética nuclear utilizando DMSO-d₆, deuterado Figura 3. Los desplazamientos químicos del almidón modificado se muestran en la Tabla 2. El desplazamiento químico de las señales de los enlaces químicos α-(1-4) y α-(1-6) se observan en δ 3.58 ppm y 5 ppm, respectivamente. Los desplazamientos químicos del almidón de plátano macho y del polietileno son similares a los reportados en la literatura ¹²⁻¹³. La señal que aparece en δ 4.45ppm corresponde al protón del carbono del PE (h-7) enlazado al oxígeno del almidón, O-C-H. Esta última señal indica que se obtuvo el copolímero injerto almidón-g-PEOH tal como se concluyó en el análisis por infrarrojo.

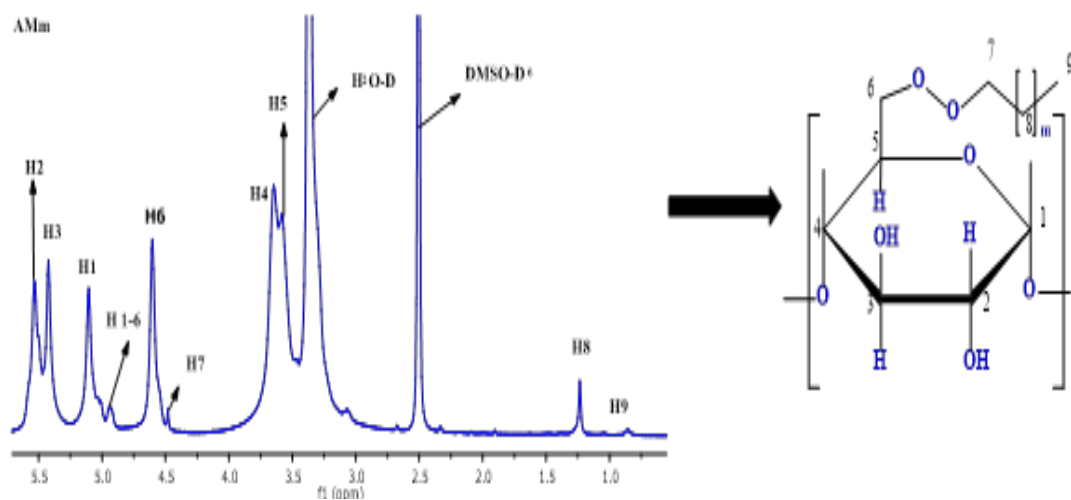


Figura 3. Espectros de H¹ a) almidón modificado masa AMm

Tabla 2. Desplazamiento químico del almidon modificado

AMm	
¹ H Asignación	Desplazamiento químico (ppm)
H-1	5.11
H-2	5.49
H-3	5.39
H-4	3.58
H-5	3.65
H-6	4.57
H-1-6	5
H-7	4.8
H-8	1.25
H-9	0.86

CONCLUSIONES

La copolimerización injerto del almidón con polietileno monoalcohol se llevó a cabo mediante el método en masa. A partir de la caracterización química del copolímero almidón-g-PEOH por FTIR

se encontró que la señal del enlace químico H-C-O del almidón de plátano macho con el PE se encuentra sobrelapado con las señales de almidón nativo en el intervalo de 1000 a 1200 cm^{-1} . Sin embargo, por RMN esta señal se aprecia con claridad a δ 4.45 ppm y además esta técnica instrumental permitió elucidar la estructura química del copolímero injerto almidón-g-PE. Por el análisis termogravimétrico se logró establecer que el almidón modificado es térmicamente menos estable que los polímeros de partida.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bastón R. E., (1990). Dexus Research Inc. Industrial Applications for Adhesives. Adhesives and Sealants. ASM International.
2. Brown Gómez, A., Vázquez, H.; Alba, L., Reyna, M., García, J. L., Rodríguez, M.E., (2007). Estudio de un polímero funcionalizado de sacarosa. Revista Mexicana de Ingeniería Química, 27-32.
3. Pinzón Moreno, D. D., Clodoaldo, S., (2017). Low-density polyethylene waste/recycled wood composites. Composite Structures.176, 1152-1157.
4. Demirors, M., (2011). The history of polyethylene. *100+ years of plastics. Leo Baekeland and Beyond*. ACS Symposium Series. 1080, 115-145.
5. Meneses, J., Corrales, C., Valencia, M., (2007). Síntesis y caracterización de un polímero biodegradable a partir del almidón de yuca. Revista EIA, 8, 57-67.
6. Raghavan, D., Emekalam, A., (2001). Characterization of starch/polyethylene and starch/polyethylene/poly (lactic acid) composites. Polymer Degradation and Stability, 72(3), 509-517.
7. Kiatkamjornwong, S., Thakeow, P., Sonsuk, M., (2001). Chemical modification of cassava starch for degradable polyethylene sheets. Polymer Degradation and Stability, 73(2): 363-375.
8. Gong, Q., Li-Qun, W., Kehua, T., In situ polymerization of starch with lactic acid in aqueous solution and the microstructure characterization. Carbohydr. Polym. 2006, 64, 501-509.
9. Ramírez-Hernández, A., Mata-Mata, J. L., Aparicio-Saguilán, A., González-García, G., Hernández-Mendoza, H., Gutiérrez-Fuentes, A., Báez-García, E. (2016). The effect of ethylene glycol on starch-g-PCL graft copolymer synthesis. Starch/starke, 68, 1148–1157.
10. Ramírez-Hernández, A., Aparicio-Saguilán, A., Mata-Mata, J. L., González-García, G., Hernández-Mendoza, H., Gutiérrez-Fuentes, A. and Báez-García, E. (2017), Chemical modification of banana starch by the in situ polymerization of ϵ -caprolactone in one step. Starch/Stärke, 69(5), 1-10.
11. Shanshan, L., Jiyu, G., Jun, C., Haiyan, T., Yanhua, Z., Effect of annealing on the thermal properties of poly (lactic acid)/starch blends. Int. J. Biol.Macromol. 2015, 74, 297-303.
12. Dust, J. M. Fang, Z. H., Harris, J. M. (1990). Proton NMR characterization of poly(ethylene glycols) and derivatives. Macromolecules, 23(16), 3742–3746.
13. Cheng, H. N., Neiss, T., Solution NMR spectroscopy of food polysaccharides. Polym. Rev. 2012, 52, 81–114.

GENERACIÓN DE METALOFÁRMACOS A PARTIR DE FÁRMACOS RECUPERADOS DE MEDICAMENTOS CADUCOS

María del Carmen Hernández Galindo, Yesenia Cruz Cano, Luz Divina Amador Amador, Karina Monserrat Ramírez Gaytán, Karen Itzel Chávez López y Lorena Hernández Ramiro

Universidad de la Cañada

RESUMEN

El uso de los medicamentos ha aportado contaminación ambiental debido a la mala disposición de los medicamentos caducos debido a la falta de centros de acopio o de información proporcionada a los pacientes. Por ello se ha realizado en la Cañada Oaxaqueña la recolección de medicamentos caducos por parte de estudiantes de la UNCA, una parte han sido canalizados a su destrucción según las Normas Oficiales Mexicanas y otra cantidad han servido para realizar prácticas de extracción del fármaco (existente en cantidades considerables con su estructura intacta); esto con el fin de poder sintetizar metalofármacos de bajo costo. Se comparan diversas formas de extracción de fármacos (usando disolventes halogenados o con etanol), y se analizan diversos caminos sintéticos que nos permitan la generación de metalofármacos a bajo costo, buscando que en su síntesis se genere la menor cantidad de subproductos y desechos posibles para no contribuir a la contaminación ambiental. El objetivo es poder llegar a generar metalofármacos baratos y analizar su actividad biológica. A futuro aportaría un ahorro a nivel industrial reflejado en mayor acceso a mejores tratamientos.

INTRODUCCIÓN

Los medicamentos han ayudado a la humanidad en el tratamiento de enfermedades desde hace mucho tiempo. Actualmente se buscan fármacos con mayor especificidad para ser usados como principios activos en medicamentos y con un mínimo de reacciones secundarias. Un ejemplo ha sido la búsqueda de compuestos que puedan ser usados en tratamientos anti-cancerígenos, ya que las quimioterapias usadas actualmente generan diversos problemas en los pacientes tales como fatiga, trastornos gastrointestinales, etc. [1]; además de ser tratamientos costosos. Por ello el desarrollo de los metalofármacos a partir de fármacos conocidos ha tenido auge, ya que se ha encontrado que son menos agresivos que los antecesores (tales como los compuestos de platino). Se ha encontrado que la presencia de un metal en las moléculas de fármacos potencializa la actividad del fármaco y disminuye los efectos secundarios en comparación con los fármacos libres. Un ejemplo de este caso es el aspirinato de cobre contra el ácido acetilsalicílico, así como de algunos anti-inflamatorios no esteroideos (AINES) contra los complejos de éstos con metal [2].

Las industrias farmacéuticas han apoyado a la humanidad con la generación de los medicamentos y a su vez se encuentran reguladas para controlar la contaminación del medio ambiente [3]. Por ello han mejorado sus procesos de producción, sin embargo la contaminación por fármacos se da también por el mal desecho de los mismos [4]. Los medicamentos caducos no son desechados de forma apropiada (generalmente van a dar a la basura o al drenaje). En México no se tiene la cultura de recolección de medicamentos caducos ni de depósito en centros de acopio para su correcta destrucción. Por ello las alumnas de Ingeniería en Farmacobiología se han dado a la tarea de recolectar fármacos caducos y generar en la región de la Cañada Oaxaqueña una conciencia ambiental. Se han recolectado diversos tipos de fármacos: AINES, Antibióticos, Antihipertensivos, etc. Pero ha surgido la pregunta: ¿Qué más podemos hacer con los medicamentos caducos?, y se ha propuesto la recuperación de los fármacos a partir de los medicamentos caducos para posteriormente ser usados en síntesis para generar metalofármacos de bajo costo y poder estudiar tanto su estructura como su posible actividad biológica.

TEORÍA

La generación de medicamentos en la industria farmacéutica se encuentra en constante cambio, uno de sus objetivos es la generación de mejores medicamentos y más baratos. Dentro de los más requeridos se encuentran los antibióticos, pero en las últimas décadas ha surgido la necesidad de mejores tratamientos para cáncer. El problema que se ha presentado constantemente en este tipo de compuestos es su precio y su especificidad. Aunado a ello los efectos secundarios han provocado

“miedo” en su uso por parte de los pacientes, por lo cual muchos de ellos prefieren no someterse a los tratamientos.

Los medicamentos más usados en diversos tratamientos de cáncer han sido los complejos de platino (cisplatino, carboplatino, oxiplatino, nedaplatino, loboplatino, heptaplatino) [5] y algunas otras moléculas con metales diversos cuya síntesis ha sido diseñada específicamente. Pero también ha surgido una línea de metalofármacos los cuales proceden a partir de un fármaco conocido con un centro metálico. Dentro de los fármacos más usados se encuentran los AINES y los antibióticos, y algunos de los complejos metálicos han sido estudiados estructuralmente así como su actividad biológica, proponiéndose su uso a futuro en medicamentos [2, 6-8]. Los resultados presentados en dicho campo de investigación han alentado el estudio en el área.

Pero además de que los medicamentos han ayudado al ser humano a una mejor calidad de vida, también han contribuido a la contaminación del medio ambiente. Generalmente se tiene un botiquín en casa en donde se almacenan medicamentos que han sobrado de varios tratamientos (principalmente antibióticos de diversos tipos), además de los usados comúnmente para el dolor (AINES). Se almacenan por cierto tiempo, pero cuando se realiza la limpieza de dicha área pocas veces nos preguntamos qué hacer con los medicamentos caducos, ya que su disposición final es generalmente la basura o el drenaje, sin darnos cuenta del problema de contaminación ambiental que causamos.

Pero ¿Qué es un medicamento caduco? ¿Por qué contaminamos si lo desechamos? La COFEPRIS a través de la revista del consumidor en el 2007 da a conocer al público en general la siguiente información: “se les denomina medicamentos caducos a todos aquellos que ya no conservan sus propiedades químicas, físicas, microbiológicas y biofarmacéuticas dentro de los límites específicos de conservación, es decir, cuando ya no logran los efectos esperados”...” La Legislación Mexicana prevé que los residuos generados por la industria farmacéutica y los medicamentos caducos deben tener un manejo de acuerdo con el reglamento de la Ley General del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente en Materia de Residuos Peligrosos...”Esté pendiente de los avisos relacionados con las nuevas campañas de recolección de medicamentos caducos e identifique el centro de acopio más cercano a su domicilio” [9, 10]. Sin embargo, a pesar de los avisos no se han presentado campañas en comunidades alejadas, ni se han colocado contenedores para la recolección de los medicamentos caducos.

Sabemos que un medicamento caduca por: la degradación química del principio activo, la formación de un producto tóxico resultante del proceso de descomposición, inestabilidad que disminuye la biodisponibilidad, cambios en la apariencia física. Dentro de los medicamentos caducos considerados como residuos peligrosos se encuentran los Antibióticos, Psicotrópicos, Oncológicos y Hormonales, a los cuales se les debe dar un tratamiento químico o bien encapsulamiento con polímeros, se inactivarán y/o destruirán por parte de la Secretaría de Salud. Esta información ha sido generada por CENAPRED y el Instituto Nacional de Ecología y proporcionada en general al sector salud, así también puede ser accesible a personas en general a través de internet [10].

Sin embargo cuando asistimos al médico y se nos proporciona una cantidad de antibiótico, no se dan indicaciones al paciente por parte del médico ni por parte del personal que surte el medicamento de que en caso de sobrar medicamento no se use para automedicarse (que se hace comúnmente) y que dicho sobrante se regrese al centro de salud o si se tiene ya caduco se lleve para su recolección y destrucción, ya que son considerados residuos peligrosos por la contaminación ambiental que generan y que no serán usados para la reventa como muchas veces puede pensar el público en general.

Con todo lo anterior nos hemos planteado el objetivo de recuperar el principio activo de los medicamentos caducos y generar metalofármacos de bajo costo, ya que en muchos casos comprar los principios activos puros puede resultar caro; así poder hacer conciencia de no contaminación por medicamentos y poder realizar investigación en química de una forma barata y segura, con posible aplicación futura.

PARTE EXPERIMENTAL

Parte I Obtención de fármacos a partir de medicamentos caducos

Se realizó la recolección de medicamentos caducos en la región de la Cañada Oaxaqueña, específicamente en la comunidad de Teotitlán de Flores Magón, Oaxaca; encontrándose los

siguientes tipos de medicamentos: AINES, antibióticos, antihipertensivos, antidepresivos, suplementos vitamínicos, anticonceptivos.

Se eligieron los AINES y antibióticos en presentaciones de comprimidos, pastillas y cápsulas, con un solo principio activo que tuviera más de 100mg por unidad. También se tomaron las presentaciones inyectables liofilizadas. Todos estos con no más de un año de caducidad para la extracción de la mayor cantidad posible de fármaco.

Para iniciar se tomó como medicamento a la aspirina (ácido acetil salicílico, AAS) por cuestiones de abundancia en los medicamentos caducos.

La extracción del principio activo se realizó por los siguientes métodos:

1. Con disolvente halogenado. Se muelen pastillas de aspirina, se disuelve el polvo en diclorometano y la extracción se realiza con disolución de hidróxido de sodio, posteriormente se acidula con ácido clorhídrico. El problema es que se lleva a cabo la hidrólisis del AAS y se obtiene ácido salicílico (AS). Este procedimiento es comúnmente usado en prácticas de química orgánica en las que posteriormente se realiza la esterificación del AS para obtener ASS [11].
2. Con etanol caliente. En este proceso se obtiene el ácido acetil salicílico si se trabaja rápidamente la disolución de la tableta en alcohol, filtrando en caliente y evaporando rápidamente para evitar la hidrólisis. Pero si se realiza lentamente o con demasiado calor hay degradación a ácido salicílico [11].

El método de extracción que usamos fue con etanol caliente, usando etanol comercial desnaturalizado (usado comúnmente en casa como antiséptico). Los fármacos recuperados fueron comparados contra los estándares adquiridos comercialmente, por espectroscopía IR, UV-vis, además de la determinación del punto de fusión y cromatografía en placa.

Parte II Síntesis y caracterización de los complejos metálicos

Se compraron estándares de AS y AAS para poder tener compuestos de referencia con los cuales comparar los fármacos extraídos de medicamentos caducos, los cuales fueron adquiridos en una distribuidora de productos químicos. Los reactivos usados de sulfato de cobre(II) anhidro (CuSO_4) y el cloruro de cobre(II) dihidratado ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) fueron adquiridos a través de una distribuidora de productos químicos; el bicarbonato de sodio (NaHCO_3) usado fue el de uso comercial (para cocinar). Los espectros UV-vis fueron obtenidos en disolución etanólica en un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 35, mientras que los espectros IR se obtuvieron a partir de los polvos en un equipo Bruker Tensor 27 con ATR.

La síntesis de los complejos se realizó basándonos en el método reportado por Fujimori [12], adaptándolo a las condiciones y reactivos con los cuales contamos.

Para iniciar hemos probado el reproducir el aspirinato de cobre usando los reactivos con los cuales contamos. Los complejos se realizaron a la par colocando a reaccionar el AAS estándar y el recuperado, según el procedimiento ya reportado [12]. Primeramente con CuSO_4 , y posteriormente siguiendo el mismo procedimiento ya reportado [12]. A una disolución de NaHCO_3 0.002 mol, en 20 mL de agua se le adicionó AAS 0.002 mol con agitación vigorosa hasta la disolución del AAS, posteriormente se agregó 0.001 mol de la sal correspondiente de cobre (II) directamente sin dilución previa en agua. Las reacciones se dejaron en agitación a temperatura ambiente por 12 horas y los compuestos obtenidos fueron filtrados por gravedad y secados a temperatura ambiente.

Como otra forma de sintetizar complejos se propone el llevar a cabo el experimento según el método de síntesis directa [13] para la generación de metalofármacos, aprovechando los residuos de cables de cobre generados por los desechos de cables, auriculares, etc., usando diversos tipos de disolventes (desde el DMSO reportado en dicho método como el uso de alcohol comercial), para observar si es viable o no la formación de complejos.

RESULTADOS

La pureza de los estándares fue confirmado por punto de fusión y placa cromatográfica. Cuando se analizan por espectroscopía UV-vis los estándares (5.55×10^{-4} mol aforado a 10mL en etanol) muestran una absorbancia alrededor de 300nm tal como lo indica la literatura [14] observándose una marcada absorción para el AS y no así para el AAS (figura 1). La espectroscopía IR muestra diferencias evidentes en las bandas vibracionales correspondientes a las diferentes estructuras (figura 2).

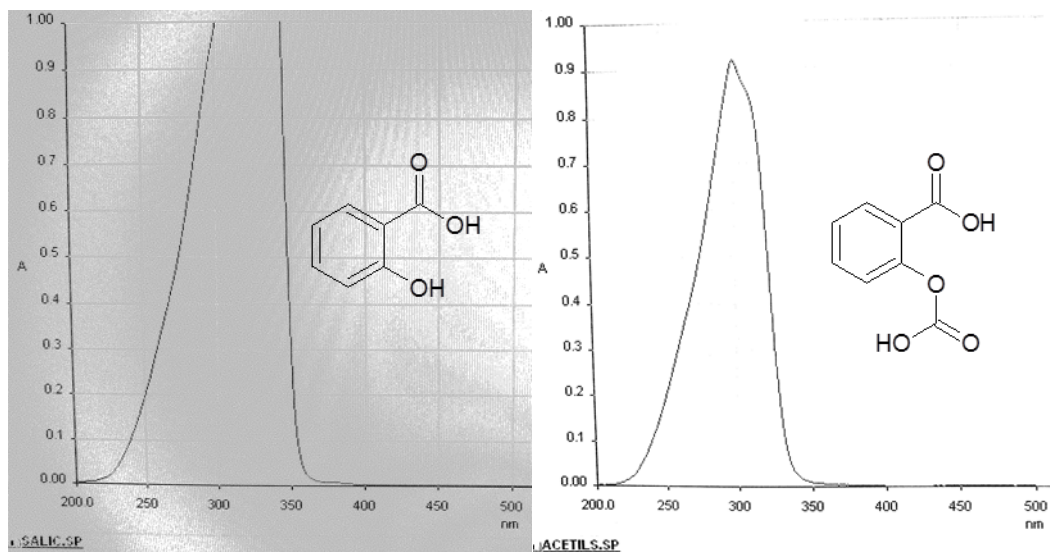


Figura 1.- Espectro UV-vis del estándar de AS (izquierdo) y del estándar de AAS (derecho).

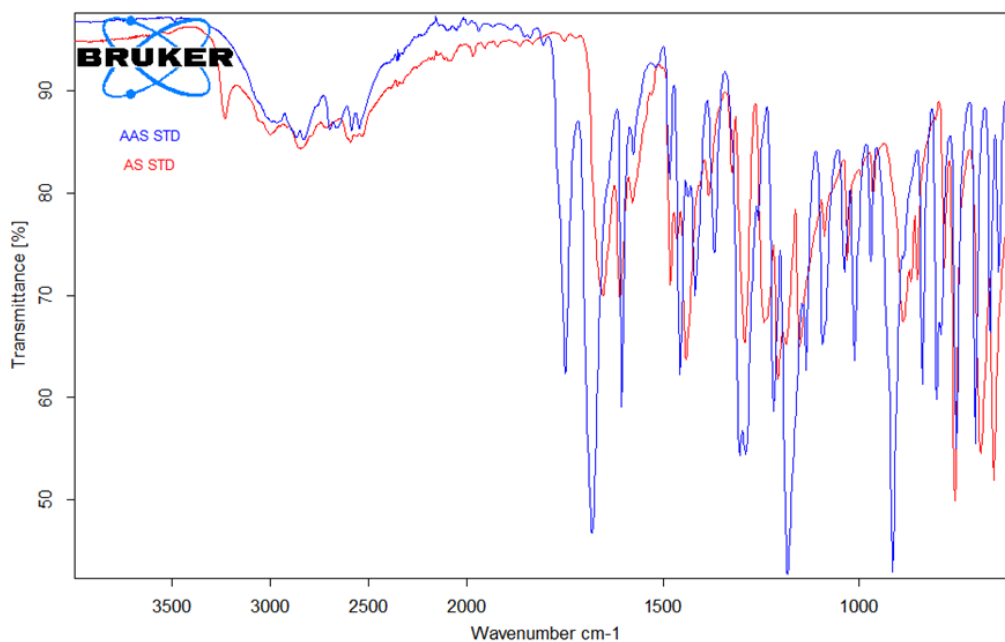


Figura 2.- Lado derecho espectros IR de los estándares de AAS (azul) y AS (rojo).

Fueron comparados el estándar del AAS con el precipitado extraído de las aspirinas caducas, encontrando por punto de fusión y cromatografía en capa fina que se encontraban puros y los espectros de IR mostraron los mismos valores de bandas para el AAS estándar y para el recuperado del medicamento caduco (figura 3). El rendimiento en la obtención del fármaco varió con respecto a la marca y a las fechas de caducidad (entre mayor es el tiempo de caducidad la obtención del principio activo es menor, diversas marcas manejan diferentes excipientes y es lo que llega a afectar a la caducidad del fármaco), obteniéndose entre 51 y 71 %

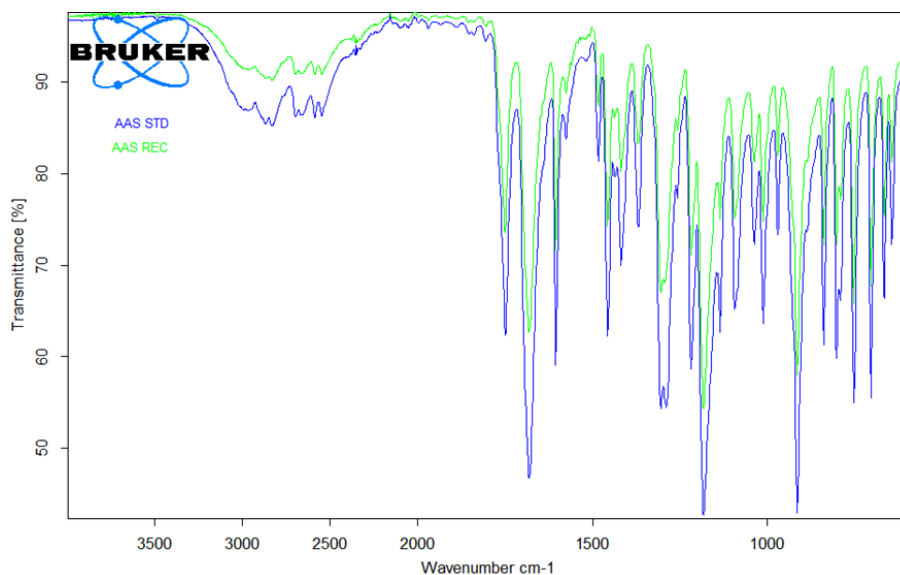


Figura 3.- Espectro IR del estándar de AAS (azul) vs AAS recuperado (verde)

Con estos resultados confiamos en la pureza del fármaco recuperado, por lo que decidimos realizar los complejos a la par entre el AAS estándar y el recuperado. Como ya se mencionó en la metodología se realizó primeramente con CuSO_4 y se obtuvo el esperado precipitado azul. Al realizar la reacción con el $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ la reacción no generó inmediatamente el precipitado ni el cambio de color como en el caso anterior por lo que se dejó a término de tiempo (12 horas) en el cual se observó la presencia del precipitado azul. Se tomaron los IR de los productos del AAS estándar con el AAS recuperado, observando que se trataba del mismo complejo. Al comparar los cuatro complejos obtenidos se encontró que se trataba del mismo complejo por espectroscopía infrarroja (figura 4). Los valores de las principales bandas se pueden observar en la Tabla 1, dicha asignación corresponde a los valores previamente reportados [12, 15, 16] Los rendimientos de reacción usando el cloruro de cobre fue del 50%, mientras que al usar el sulfato de cobre anhidro el rendimiento corresponde al 61%. Rendimientos aceptables tomando en cuenta que se usaron reactivos de uso comercial y no de grado químico reactivo.

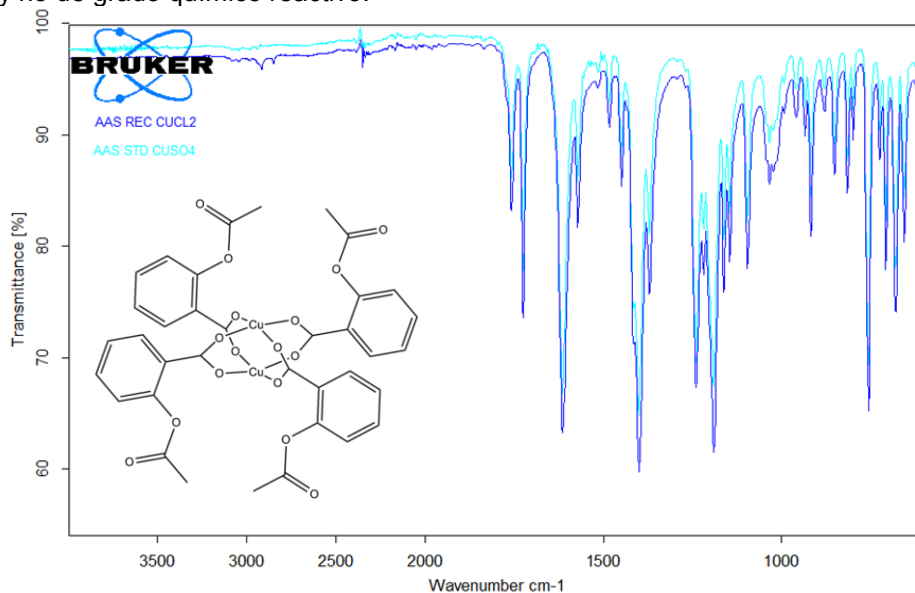


Figura 4.- Espectro de los complejos de AAS con Cloruro de cobre (azul fuerte) y AAS con sulfato de cobre anhidro (azul claro)

Tabla 1.- Asignación de las principales bandas de vibración de los compuestos

ν (cm ⁻¹)	ν COOH	ν st C=O carboxilo y acetilo	ν st COO	ν st C-O	ν asim C=O acetilo	ν sim y asim C=O	ν sim C-O	ν st COO benzoatos
Estándar AAS	2546-2968	1749, 1680	1456, 1418	1183				
Estándar AS	2592-3232	1652, 1609	1441, 1481	1207				
Método 1 AS rec	2593-3238	1652, 1610	1441, 1480	1206				
Método 2 AAS rec	2546-2963	1750, 1681	1456, 1418	1183				
AAS rec CuCl ₂ H ₂ O	---	---	---		1758, 1724	1614-1399	1189	679
AAS rec CuSO ₄ anh	---	---	---		1758, 1725	1615-1399	1190	680

Con estos resultados el siguiente paso será el reproducir los estudios de actividad biológica reportados y poder generar pomadas o geles con dicho medicamento dentro de las prácticas de laboratorio para poder ser estudiada su eficacia. Un plan a largo plazo es el poder generar medicamentos a bajo costo accesibles a las comunidades de escasos recursos.

CONCLUSIONES

Se ha propuesto una forma de generar metalofármacos (aspirinato de cobre) a partir de fármacos recuperados de medicamentos caducos usando como reactivos sustancias usadas comúnmente más baratas y accesibles que los reactivos comprados de grado analítico en los laboratorios de investigación. El resultado ha dado compuestos con las mismas características químicas que los sintetizados con estándares y reactivos grado reactivo.

Se continuará con la recuperación de AINES y antibióticos. Una de las propuestas es realizar metalofármacos combinando AINES y antibióticos, así como continuar experimentando con los métodos de síntesis aquí reportados además de explorar algunos otros como el método de síntesis directa con metal.

Con lo obtenido al momento se propone en un futuro el poder proponerlo a nivel industrial para poder generar fármacos económicamente accesibles.

BIBLIOGRAFÍA

1. <https://www.cancer.net/es/desplazarse-por-atenci%C3%B3n-del-c%C3%A1ncer/c%C3%B3mo-se-trata-el-c%C3%A1ncer/quimioterapia/efectos-secundarios-de-la-quimioterapia>.
2. J. F. Benavides Arévalo, G. E. Tobón Zapata, "Evaluación in vitro de tabletas orales de complejos de cobre con antiinflamatorios no esteroideos", Revista Cubana de Farmacia, vol. 48, no. 2, 2014, pp. 239-249.
3. http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4885118&fecha=24/11/1995.
4. <http://revistafortuna.com.mx/contenido/2014/07/10/medicamentos-caducos-riesgo-sanitario-y-ambiental/>.
5. J. W. Nial, W. Shonagh, E. C. Gemma, O. Rabban, "The status of platinum anticancer drugs in the clinic and in trials" Dalton Trans, Vol. 39, 2010, pp. 8113-8127.
6. T. Palacios-Hernández, L. Cedillo-Ramírez, J. L. Sánchez-Salas, M. A. Méndez-Rojas, "Toxicología de complejos metal-antiinflamatorio en diferentes modelos biológicos", 2º Congreso Nacional de Química Médica, 2007.
7. G. A. Ortega Moreno, "Síntesis y caracterización de complejos de manganeso(II) y cobalto(II) que contienen sulfametoxazol y cefalosporinas", Tesis presentada en la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Escuela de Ciencias, Cumaná, 2010.

8. J. Weder, C. Dillon, "Copper complexes of non-steroidal anti-inflammatory drugs: an opportunity yet to be realized", *Coordination Chemistry Reviews*, vol. 232, 2002, pp. 95-126.
9. Revista del Consumidor, Noviembre 2007, pp. 71-72. https://www.profeco.gob.mx/revista/publicaciones/adelantos_07/70-73%20medicamentos%20OKMM.pdf.
10. C. P. Hernández Barrios, G. Fernández Villagómez (CENAPRED), J. Sánchez Gómez (INE), *Manual para el tratamiento y disposición final de medicamentos y Fármacos caducos* (INE, CENAPRED, 1995) pp. 14-18.
11. G. James-Molina, A. Romero-Martínez, G. Pieza Robles, J. Haro-Castellanos, "Integración de experimentos en Química Orgánica", *Educación Química*, vol. 13, no. 2, 2002, pp. 85-89.
12. T. Fujimori, S. Yamada, H. Yasui, H. Sakurai, Y. In, T. Ishida, "Orally active antioxidative copper(II) aspirinate: synthesis, structure characterization, superoxide scavenging activity, and in vitro and in vivo antioxidative evaluations", *J. Biol. Inorg. Chem.*, vol.10, 2005, pp. 831-841.
13. Y. Reyes-Ortega, J. L. Alcántara-Flores, M. C. Hernández-Galindo, R. Gutiérrez-Pérez, D. Ramírez-Rosales, S. Bernès, B. M. Cabrera-Vivas, A. Durán-Hernández, R. Zamorano-Ulloa, "Weak ferromagnetic behavior, crystal structure, and electronic studies of novel [Cu(II)(Br)(PhCO₂)(Sp)] (Sp=(-)- sparteine) complex". *Journal of Molecular Structure*, Vol. 788, Issue 1-3, 2005, pp. 145-151.
14. K. A. Connors, "Curso de análisis farmacéutico", (Editorial Reverté, S. A., Edición en español, 1991), Parte 6, pág. 607.
15. E. Pretsch, R. Clerc, J. Seibl, W. Simon, "Tablas para la elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos", version Española J. Castells, F. Camps, (Editorial Alhambra, 1980), pp. 178-229.
16. G. V. Seguel, B. L. Rivas, J. G. Contreras, "Synthesis and characterization of copper complexes: interaction of metallicarboxilates with 1,3-thiazole ligand", *J. Chil. Chem. Soc.*, vol. 58, no. 4, 2013, pp. 1967-1970.

SÍNTESIS DE UN SISTEMA NANOMÉTRICO PARA LIBERACIÓN DE HIDROXI-METIL-BUTIRATO USADO EN LA REGENERACIÓN DE MASA MUSCULAR

Angélica Pérez Magallón¹, Jenny Arratia Quijada², Angélica Villarruel López¹, Miguel Antonio Maldonado Rubio³, Gabriela Camargo Hernández⁴, Leonardo Hernández Hernández⁴, Gregorio Guadalupe Carbajal Arízaga¹.

¹Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías-Universidad de Guadalajara, ²Centro Universitario de Tonalá-Universidad de Guadalajara, ³Universidad Autónoma de Nayarit, ⁴Centro Universitario de Ciencias de la Salud-Universidad de Guadalajara.

RESUMEN

Los hidróxidos dobles laminares (HDL) contienen aniones interlaminares que pueden ser intercambiados por biomoléculas ionizables como el hidroximetil butirato (HMB), que es usado para prevenir la distrofia muscular, o el colágeno que es usado en la preparación de biomateriales ya que no es tóxico y no daña los tejidos naturales. En este proyecto se sintetizaron HDL de Mg/Al y Zn/Al a partir de nitratos de los respectivos metales y se prepararon muestras con un suplemento de HMB (sup-HMB) y colágeno por el método de coprecipitación. Después se caracterizaron mediante difracción de rayos X (DRX), donde se observó que las muestras obtenidas forman una fase pura de HDL, y por espectroscopía infrarroja (FT-IR), mediante la cual se corroboró la presencia del colágeno y de sup-HMB. Se aproximó la cuantificación de colágeno y sup-HMB mediante análisis de pérdida de masa y análisis de intensidades relativas de las señales en los espectros infrarrojos en los que se encontraron porcentajes de 21.6% y 2.6% para colágeno y sup-HMB, respectivamente. En el organismo modelo *C. elegans*, se realizó un ensayo de supervivencia en la que se evaluaron 3 concentraciones de HDL y se compararon con un control, sin embargo, la exposición del HDL con el nemátodo no presentó toxicidad significativa. Además, se realizó una prueba de consumo y monitoreo en la que se mezcló HDL con el alimento, para obligar al organismo a alimentarse de la muestra y después observarlos al microscopio para compararlos con nemátodos de un grupo control, sin embargo, no se observaron diferencias significativas.

INTRODUCCIÓN

Los nanomateriales poseen componentes con al menos una dimensión comprendida entre 1 y 100 nanómetros; estos materiales presentan propiedades únicas y diferentes a los materiales en escala macroscópica ¹. Pueden ser subdivididos en nanopartículas, nanocapas y nanocompuestos ². Desde el punto de vista comercial, existen tres categorías básicas de nanomateriales: óxidos metálicos, nanotubos de carbono y nanoarcillas ².

Los hidróxidos dobles laminares (HDL) pertenecen a la familia de las arcillas aniónicas laminares, las cuales tienen interesantes y diversas propiedades como la biocompatibilidad, la estabilidad química y la solubilidad dependiente del pH, entre otras ^{3,4}.

Son sólidos sintéticos laminares con capas de una mezcla de hidróxidos metálicos cargadas positivamente, separadas por aniones interlaminares hidratados, descritos por la fórmula general: $[M(II)_{1-x} M(III)_x(OH)_2]^{x+}[(A^{n-})_{x/n} \cdot mH_2O]$, donde M(II) es un catión metálico divalente como Mg, Mn, Ni, Zn, Co, Fe y Cu; M(III) es un catión metálico como Al, Fe, Co, Ni, Mn y Cr; Aⁿ⁻ es un anión interlaminares como Cl⁻, F⁻, CO₃²⁻, NO₃⁻ y SO₄²⁻; el valor de x está entre 0.2 y 0.33 generalmente representa la relación molar M(II)/[M(II) + M(III)] ^{5,6}.

La síntesis a nivel laboratorio e industrial de los HDL es considerada relativamente sencilla y de bajo costo ⁶. Entre los métodos de síntesis más comunes están la coprecipitación y el intercambio iónico⁶. Los derivados de intercalación a base de HDL se componen de una matriz u hospedero que son las redes cristalinas formadas por un conjunto de láminas, mientras que al anión interlaminares se le denomina huésped, el cual puede ser un ión orgánico, lo que producirá un compuesto híbrido⁶. Los HDL híbridos sirven como sistemas reservorios aniónicos, otorgan una mayor estabilidad y protección en sus compuestos huésped y, algunas veces, mejoran sus propiedades inherentes, volviéndose biocompatibles en sistemas biológicos ⁶. El colágeno es un polímero natural que representa el material matriz de los huesos, dientes y tejido conectivo, el cual puede ser extraído de fuentes humanas o animales⁷. Provee una excelente base para los biomateriales, ya que es fácilmente disponible, no tóxico y la arquitectura de sus fibras es inherente en los tejidos naturales ⁷.

Por otro lado, el hidroximetilbutirato (HMB) es un metabolito de la leucina que está presente en alimentos tales como frutas cítricas, algunos pescados y en la leche materna, sin embargo, es muy difícil e impráctico proveer en la dieta las cantidades de HMB usadas en estudios para demostrar la inhibición de la degradación de proteínas y la ganancia de masa muscular⁸. Por esta razón, la suplementación de HMB ha sido usada como una alternativa para los practicantes del entrenamiento con pesas, por individuos con estrés muscular extremo, personas de la tercera edad o pacientes con enfermedades asociadas con síndromes de pérdida de músculo⁸. A pesar de que el HMB es naturalmente producido en el organismo mediante la ingesta de proteína, su producción endógena es aproximadamente de 0.2 a 0.4 gramos de HMB por día, dependiendo del contenido de leucina en la dieta; es decir, un individuo debería consumir alrededor de 600 g de proteína para obtener los 60 gramos de leucina necesarios para producir la dosis diaria de 3 gramos de HMB utilizada en estudios humanos, por lo que comercialmente se encuentra disponible como suplemento alimenticio en forma de sal de calcio mono hidratada o ácido libre^{9,10}.

El *Caenorhabditis elegans*, mejor conocido como *C. elegans*, es un nemátodo de vida libre que ha emergido como un importante modelo animal dentro de diversos campos de la ciencia, entre ellos la neurobiología, biología del desarrollo y genética¹¹. Su gran éxito se debe a su fácil mantenimiento, su corto y prolífico ciclo de vida, su genoma completamente secuenciado, su desarrollo completamente descrito, su manipulabilidad genética y su pequeño tamaño¹¹. El *C. elegans* adulto mide 1 mm de largo y, en el laboratorio, es normalmente cultivado en cajas Petri con agar, las cuales son sembradas con *Escherichia coli* que es de lo que se alimenta este nemátodo¹².

Actualmente, se ha incrementado la evidencia de que los resultados obtenidos mediante el modelo del *C. elegans* pueden ayudar a predecir resultados en eucariotas más grandes, tanto en niveles genéticos como en fisiológicos y toxicológicos, ya que muchos de los procesos fisiológicos básicos y responsables de estrés que se observan en grandes organismos (como los humanos) se conservan en el *C. elegans*¹¹. Debido a ello, ha sido usado como sistema modelo para elucidar la toxicidad y mecanismos toxicológicos de nanopartículas de compuestos con metales pesados (aluminio, cadmio, plata, zinc, etc.)¹¹. En general, estos estudios se enfocan en varios puntos finales tóxicos como la letalidad, la reproducción, la esperanza de vida, etc¹¹.

PARTE EXPERIMENTAL

Se prepararon dos tipos de HDL: de Zn/Al y de Mg/Al. Ambos fueron preparados en relación molar 2.5:1 por el método de coprecipitación, para lo cual se pesaron nitratos de los respectivos metales y se mezclaron en agua desionizada. A esta solución se le adicionó una base para ajustar el pH adecuado para la síntesis y se dejó en agitación durante 24 horas. Después se realizaron lavados con agua desionizada para retirar impurezas en la suspensión resultante y, posteriormente, se secó en estufa a 60°C.

Para las muestras con colágeno se preparó primero una solución de colágeno y en ella se agregaron los nitratos de los respectivos metales, ya sea de Zn/Al o Mg/Al, y se continuó con el procedimiento ya mencionado.

De igual manera, se preparó una solución utilizando un suplemento de HMB (sup-HMB) en la que fueron añadidos los nitratos de los respectivos metales y se continuó el mismo procedimiento descrito anteriormente.

Para la caracterización de las muestras obtenidas, se llevaron a un equipo de difracción de rayos X (DRX) y posteriormente a un equipo de espectroscopía infrarroja (FT-IR) donde, además de las muestras sintetizadas, se analizaron el colágeno y el sup-HMB puros.

Para aproximar las cantidades tanto de colágeno como del sup-HMB se realizó un análisis de pérdida de masa, para lo cual se pesó una cantidad inicial de las muestras en crisoles llevados previamente a peso constante y se llevaron directamente a la flama de un mechero hasta que dejaron de liberarse vapores. Posteriormente se introdujeron a una mufla donde permanecieron por una hora a 700°C. Dicho procedimiento se realizó por duplicado.

Por otro lado, se realizó una cuantificación mediante el análisis de intensidades relativas de las señales en los espectros infrarrojos, para la cual se prepararon mezclas de HDL con colágeno en distintas concentraciones (0, 25, 50, 75 y 100% de colágeno). Posteriormente se colectaron los espectros infrarrojos de las mezclas y se comparó la intensidad de las bandas con las del espectro infrarrojo de la muestra de HDL con colágeno sintetizada.

Del mismo modo, se prepararon mezclas de HDL con sup-HMB en las mismas concentraciones (0.25, 50, 75 y 100% de sup-HMB) sin embargo, para comparar los espectros, fue necesario coleccionar espectros con concentraciones más bajas, por lo que se prepararon mezclas con concentraciones de 0, 3, 5, 10 y 15% de sup-HMB. Los espectros obtenidos se compararon con el espectro de la muestra de HDL con sup-HMB sintetizada.

Para probar la toxicidad por contacto de las muestras de HDL, se realizó un ensayo de supervivencia utilizando el organismo modelo *C. elegans*, para lo cual se preparó una placa de cultivo celular de 24 pocillos en la cual se agregó una solución buffer de fosfatos (M9). Se manejaron tres grupos, de tres pocillos cada uno, con 3 concentraciones diferentes de HDL (0.39, 0.19 y 0.09 mg/ml) y un grupo control o blanco. Posteriormente se agregaron los nemátodos y se contaron los sobrevivientes cada hora durante un lapso de 5 horas.

Se realizó, también en el *C. elegans*, una prueba de consumo y monitoreo para la que se preparó una mezcla de HDL con OP50 que después fue sembrada en cajas Petri con agar, esto con la intención de obligar al nemátodo a alimentarse de las partículas de HDL. Se transfirieron 20 nemátodos a una caja con la mezcla de bacteria y HDL y otros 20 a otra caja con bacteria para ser utilizada como grupo control. Los nemátodos fueron transferidos cada día a una caja nueva durante cuatro días y el quinto día fueron observados al microscopio.

Para la observación del *C. elegans*, se prepararon portaobjetos con colchones de agarosa al 2% en los que se montaron los nemátodos y se adicionó azida de sodio 40 mM para su inmovilización. Se colocó un cubreobjetos y se observaron en el microscopio compuesto.

RESULTADOS

Se obtuvieron muestras de Zn/Al, Zn/Al-colágeno, Zn/Al-sup-HMB, Mg/Al, Mg/Al-colágeno y Mg/Al-sup-HMB.

Los difractogramas de las muestras sintetizadas, mostraron una fase de pura de HDL con las señales típicas correspondientes a los planos (003), (006), (012) y (110) de los hidróxidos dobles laminares. Mediante la comparación de los espectros infrarrojos obtenidos se corroboró la presencia del colágeno y del sup-HMB en las muestras sintetizadas, gracias a las bandas correspondientes a los movimientos vibracionales de las amidas I y II en el caso del colágeno, y las del ion carboxilato en el caso del sup-HMB.

Con el análisis de pérdida de masa se aproximó que las muestras de la serie de Zn/Al contienen porcentajes de 21.6% y 2.6% de colágeno y sup-HMB respectivamente.

En la cuantificación mediante espectros infrarrojos, se encontró que la muestra de colágeno se encuentra cercana a 25%, y la de sup-HMB cercana al 3% lo que se corresponde con los resultados obtenidos en el análisis de pérdida de masa.

Por otro lado, en el ensayo de supervivencia en *C. elegans*, la exposición del HDL con el nemátodo no presentó toxicidad significativa, ya que se obtuvo un 95% de supervivencia y las muertes se asociaron con el manejo del organismo.

De igual manera, en la prueba de consumo y monitoreo realizada no se encontraron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo alimentado con HDL.

CONCLUSIONES

Con base en los difractogramas obtenidos por DRX se concluye que fue posible sintetizar un material a base de HDL que, de acuerdo con el análisis de los espectros infrarrojos, es capaz de contener colágeno o sup-HMB, con al menos 21.6% y 2.6% de estos últimos respectivamente, de acuerdo con los análisis de pérdida de masa y la cuantificación mediante espectros infrarrojos. Los HDL obtenidos no presentan efecto tóxico por contacto en *C. elegans*, sin embargo, aunque no se encontraron diferencias significativas en la prueba de consumo y monitoreo, no es posible hasta el momento asegurar que el *C. elegans* se haya alimentado de la muestra de HDL.

BIBLIOGRAFÍA

1. Menéndez Velázquez, A. *Una Revolución En Miniatura: Nanotecnología Al Servicio de La Humanidad*; Universitat de València: Valencia, 2011.
2. Castells, X. E. *Diccionario de Términos Ambientales: Reciclaje de Residuos Industriales*;

- Ediciones Díaz de Santos, 2012.
3. Shamim, M.; Dana, K. Dependence of Bonding Interactions in Layered Double Hydroxides on Metal Cation Chemistry. *J. Mol. Struct.* 2016, *1125*, 27–35.
 4. Kuthati, Y.; Kankala, R. K.; Lee, C.-H. Layered Double Hydroxide Nanoparticles for Biomedical Applications: Current Status and Recent Prospects. *Appl. Clay Sci.* 2015, *112–113* (MAY), 100–116.
 5. Djebbi, M. A.; Braiek, M.; Namour, P.; Ben Haj Amara, A.; Jaffrezic-Renault, N. Layered Double Hydroxide Materials Coated Carbon Electrode: New Challenge to Future Electrochemical Power Devices. *Appl. Surf. Sci.* 2016, *386*, 352–363.
 6. Martínez, D. R.; Carbajal, G. G. Hidróxidos Dobles Laminares: Arcillas Sintéticas Con Aplicaciones En Nanotecnología. *Av. en Quim.* 2012, *7* (1), 87–99.
 7. Sionkowska, A.; Kozłowska, J. Characterization of Collagen/hydroxyapatite Composite Sponges as a Potential Bone Substitute. *Int. J. Biol. Macromol.* 2010, *47* (4), 483–487.
 8. Pinheiro, C. H. J.; Guimarães-Ferreira, L.; Gerlinger-Romero, F.; Curi, R. An Overview on Beta-Hydroxy-Beta-Methylbutyrate (HMB) Supplementation in Skeletal Muscle Function and Sports Performance. *Nutr. Enhanc. Sport. Perform. Muscle Build. Endur. Strength* 2013, 455–463.
 9. Lima-soares, F.; Cabido, C. E. T.; Pessôa, A.; Cholewa, J. M.; Amorim, C. E. N.; Zanchi, N. E. *Mechanisms of Action*; Elsevier Inc., 2017.
 10. Wilson, J. M.; Fitschen, P. J.; Campbell, B.; Wilson, G. J.; Zanchi, N.; Taylor, L.; Wilborn, C.; Kalman, D. S.; Stout, J. R.; Hoffman, J. R.; et al. International Society of Sports Nutrition Position Stand : Beta-Hydroxy-Beta-Methylbutyrate (HMB). 2013.
 11. Leung, M. C. K.; Williams, P. L.; Benedetto, A.; Au, C.; Helmcke, K. J.; Aschner, M.; Meyer, J. N. Caenorhabditis Elegans: An Emerging Model in Biomedical and Environmental Toxicology. *Toxicol. Sci.* 2008, *106* (1), 5–28.
 12. Corsi, A. K.; Wightman, B.; Chalfie, M. A Transparent Window into Biology: A Primer on Caenorhabditis Elegans. *Genetics* 2015, *200* (2), 387–407.

PERFIL DE INTERACCIÓN DEL RECEPTOR ADRENÉRGICO ALFA 1B CON LA SUBUNIDAD F DEL FACTOR DE INICIO DE LA TRADUCCIÓN 3 DURANTE LAS FASES DE CICLO CELULAR

Karina Jazmín Tenorio Martínez, Ana Edith Higareda Mendoza, Marco Aurelio Pardo Galván

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

RESUMEN

La proliferación celular se lleva a cabo de un modo controlado. El ciclo celular es un proceso altamente regulado; si existiera algún tipo de falla, nos conduciría a patologías tales como el cáncer. Por tal motivo, el conocer los elementos que regulan los procesos involucrados en él nos permiten entender y, en su caso, aportar al control de patologías relacionadas a problemas de división celular. La fase de iniciación del proceso de traducción de células eucariotas es el principal punto de control donde participan varios factores de iniciación de la traducción (eIF en eucariotas). El factor de iniciación 3 (eIF3) se encuentra presente en todos los organismos eucariontes estudiados hasta el momento. En humanos, la subunidad f (eIF3f) forma parte de dicho factor y está relacionada con el ciclo celular, mostrando un perfil de expresión bifásico en las fases S y M. Estudios demuestran que, en condiciones nativas, eIF3f interactúa físicamente con el receptor adrenérgico (RA) α 1B, una proteína de membrana plasmática que participa en la vasoconstricción y proliferación celular. La interacción del RA α 1B y eIF3f abre nuevas perspectivas en cuanto a vías de transducción de señales relacionados con estos receptores y el control de la proliferación en células humanas.

INTRODUCCIÓN

La proliferación celular es un proceso cuidadosamente regulado e irreversible que responde a necesidades específicas del organismo. El ciclo celular es una serie de eventos coordinados que permiten el crecimiento y la proliferación de la célula. Para asegurar la correcta progresión a través del ciclo, las células han desarrollado una serie de puntos de control que previenen la entrada a una nueva fase del ciclo hasta que hayan completado exitosamente la anterior. Si las células progresan a la próxima fase del ciclo celular antes de que la fase anterior se complete de manera adecuada puede producirse daño genético y/o celular. Para reducir al mínimo este tipo de errores durante los acontecimientos del ciclo celular, el progreso de una célula a través del ciclo se supervisa en puntos de control bien definidos. Uno de los componentes del control del ciclo celular son las quinasas dependientes de ciclinas (CDK) que, al activarse, permiten a las células pasar de una fase del ciclo a la siguiente. Estas CDK son reguladas positivamente por las ciclinas y negativamente por las proteínas celulares denominadas inhibidores de las CDK (CKI). Detectan fallos y detienen el ciclo celular, pero además pueden poner en marcha la reparación de las fallas, pero si esto no sucede, el crecimiento y la proliferación celular se vuelven descontrolados. Por otro lado, se sabe poco sobre los mecanismos moleculares por el que distintos subtipos de receptores adrenérgicos alfa 1 (RA α 1) participan en la regulación del ciclo celular. En el 2004, González-Cabrera y colaboradores encontraron que cuando se estimula a estos receptores con catecolaminas se altera de manera diferencial la transcripción de varios genes reguladores del ciclo celular: ciclina E, ciclina D1, ciclina B, quinasas dependientes de ciclina (Cdk2 y Cdk1), antígeno de proliferación nuclear (PCNA), promotor de Cdc2, inhibidores de quinasas dependientes de ciclina (p27Kip1, p21 Cip1) y ADN polimerasas I-IV.¹ En el caso del RA α 1B, el resultado de la estimulación por catecolaminas fue un aumento en la expresión de genes involucrados en el avance del ciclo celular, causando así una desregulación del ciclo celular y de la proliferación celular. Es decir, la activación del RA α 1B por catecolaminas se sugiere estar involucrada en la degradación de inhibidores de complejos Cdk/Ciclina en la fase S, estimulando la progresión del ciclo celular. Por otro lado, se ha reportado que el RA α 1B interactúa físicamente con la proteína eIF3f formando un complejo de aproximadamente 120 kDa, que eIF3f es esencial para la proliferación celular y que presenta un perfil de expresión bifásico con máximos en las fases S y M del ciclo celular.²⁻³ En 2012, Strittmatter y colaboradores mostraron que al estimular a los RA α 1 con catecolaminas se activa a la proteína Akt.⁴ Aunado a esto, en 2014 Jiménez-Alcántar sugiere que el complejo proteico formado por RA α 1B y eIF3f modulan la degradación de la proteína p27 con la participación de Akt.⁵ Por todo estos antecedentes, se genera la necesidad de estudiar la expresión del RA α 1B y su interacción con la proteína eIF3f durante las distintas fases del ciclo celular.

PARTE EXPERIMENTAL

Para la identificar el perfil de expresión del RA α 1B y la interacción de éste con eIF3f durante las distintas fases del ciclo celular de células humanas, se utilizó como modelo de estudio la línea celular A549. La línea celular A549 proviene de un adenocarcinoma pulmonar y su morfología de crecimiento en cultivo es adherente. La línea celular se propagó en Medio Mínimo Esencial (MEM) y suero fetal bovino (SFB) al 10%. El cultivo se mantuvo en este medio con una atmósfera de CO₂ al 5% y a 37°C, realizando recambio de medio de dos a tres veces por semana y manteniendo la concentración celular en la fase logarítmica de crecimiento.

Para el análisis de la expresión del gen RA α 1B, durante las fases específicas del ciclo celular, se agregó al cultivo un agente sincronizante, se incubó a 37°C y 5% de CO₂ y posteriormente se liberó el cultivo con lavados de PBS; se sembraron tantas muestras fueron necesarias para coleccionar a distintos tiempos, extraer proteína total y determinar índice mitótico. Para sincronizar el mayor porcentaje de células en la fase S del ciclo celular se adicionó hidroxurea durante 36 horas.

Las distintas fases del ciclo celular se determinaron mediante la cuantificación de células en la interfase y en mitosis. El índice mitótico se representó como el porcentaje de células en la fase mitótica sobre el total. Para esto, a las muestras se les retira el medio, se lavan 2 veces con PBS, se adiciona fijador (formaldehído 2% y glutaraldehído 0.2% en PBS), se incuban 10 min a temperatura ambiente, se retira la solución fijadora y se lava nuevamente 2 veces con PBS; finalmente, se adiciona una solución de DAPI en PBS y se almacena a 4°C hasta su análisis en un microscopio LEICA invertido y con epifluorescencia.

Para determinar el perfil de expresión de la proteína del RA α 1B, se extrajo primero proteína total: se retira el medio a las muestras de las células, se lava 2 veces con PBS, se adiciona tripsina para recolectar las células con PBS; se adiciona solución de lisis ProteoJET, mecánicamente con ayuda de un policía se raspa la superficie de la caja de cultivo con ayuda de una pipeta de toma la muestra y se coloca en un tubo eppendorf; se centrifuga a 16,000 g's por 18 min y, por último, se recupera el sobrenadante para ser almacenado a -70°C. Se determina la concentración de proteína por el método de Bradford a una longitud de onda de 595 nm. Se hace la separación de proteína por electroforesis en gel, bajo condiciones desnaturizantes (SDS-PAGE) de acuerdo a métodos convencionales y se detecta la proteína de interés por ensayo de Western blot. Para detectar la proteína se usa un anticuerpo primario (rabbit policlonal anti- RA α 1B) y un anticuerpo secundario (donkey policlonal anti-rabbit-HRP); para normalizar la concentración de carga de utiliza un anticuerpo primario de ratón contra GADPH y un anticuerpo secundario cabra contra ratón conjugado a HRP. Después de revelar la placa fotográfica, ésta se analiza utilizando el software Kodak Digital Science ID que relaciona la intensidad de la banda con la concentración de la proteína RA α 1B.

Para determinar el perfil de expresión de la interacción del RA α 1B con eIF3f durante el ciclo celular se realizó un Western Blot en condiciones desnaturizantes, luego se recortó la zona del gel donde se conoce que se encuentra el complejo RA α 1B con eIF3f y se colocaron las muestras en ProteoJET para eluir las proteínas. Posteriormente, se inmunoprecipitó con anti-eIF3f y una vez obtenido el precipitado se realizó un Western Blot en condiciones desnaturizantes y se realizó una inmunodetección con el anticuerpo primario contra RA α 1B y luego con el secundario (donkey policlonal anti-rabbit-HRP). Para normalizar la concentración de carga de utilizó un anticuerpo primario de ratón contra GADPH y un anticuerpo secundario cabra contra ratón conjugado a HRP. Después de revelar la placa fotográfica, ésta se analizó utilizando el software Kodak Digital Science ID que relaciona la intensidad de la banda con la concentración de la interacción de las proteínas RA α 1B y eIF3f.

RESULTADOS

Para la determinación del índice mitótico de las células A549 sincronizadas con hidroxurea se pudo observar un perfil con un Máximo del 23.97% de células en mitosis a las 7 horas (Figura1).

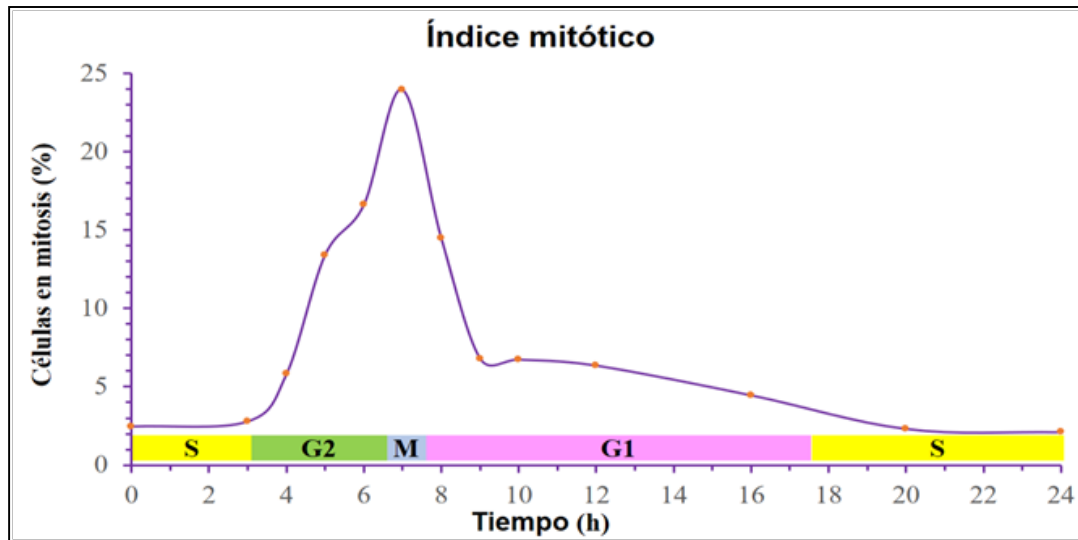


Figura 1. Representación gráfica de la proporción de la población de células A549 en mitosis durante 24 horas posteriores a la liberación del agente sincronizante.

El análisis por Western blot de la proteína extraída de las muestras sincrónicas a distintos tiempos arrojó el perfil de expresión para el RA α 1B que se muestra en la figura 2. Se puede apreciar que el RA α 1B presenta expresión cíclica con aumentos en las transiciones de las fases G1/S, S/G2 y M/G1, además del máximo que se observa en la fase M del ciclo celular.

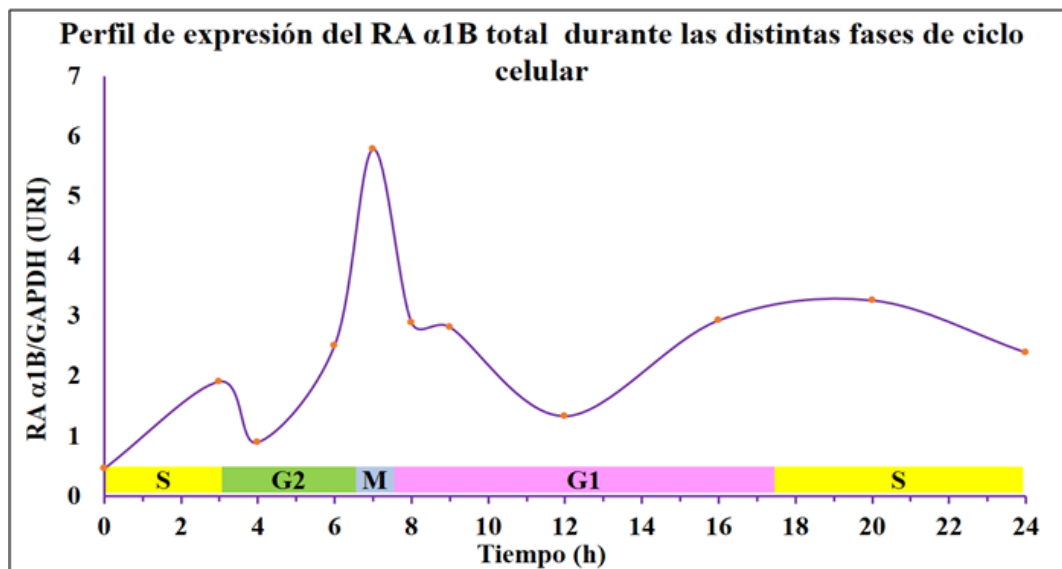


Figura 2. Perfil de expresión relativa del RA α 1B en cultivo sincrónico de A549. El cultivo fue liberado del agente sincronizante a la hora cero. Se normalizaron las determinaciones de RA α 1B con su correspondiente control interno de GAPDH.

El análisis de las muestras sincrónicas a distintos tiempos arrojó el perfil de interacción entre el RA α 1B y la proteína eIF3 que se muestra en la figura 3. Se puede apreciar que la interacción entre el RA α 1B y eIF3 presenta una patrón cíclico con aumentos en las fases S/G2, M/G1 y G1/S del ciclo celular. Interesantemente, la expresión de eIF3 y del RA α 1B presenta máximos en la fase M del ciclo celular, pero su interacción física no se presenta en esta fase. Los resultados de expresión e interacción se resumen en la tabla 1.

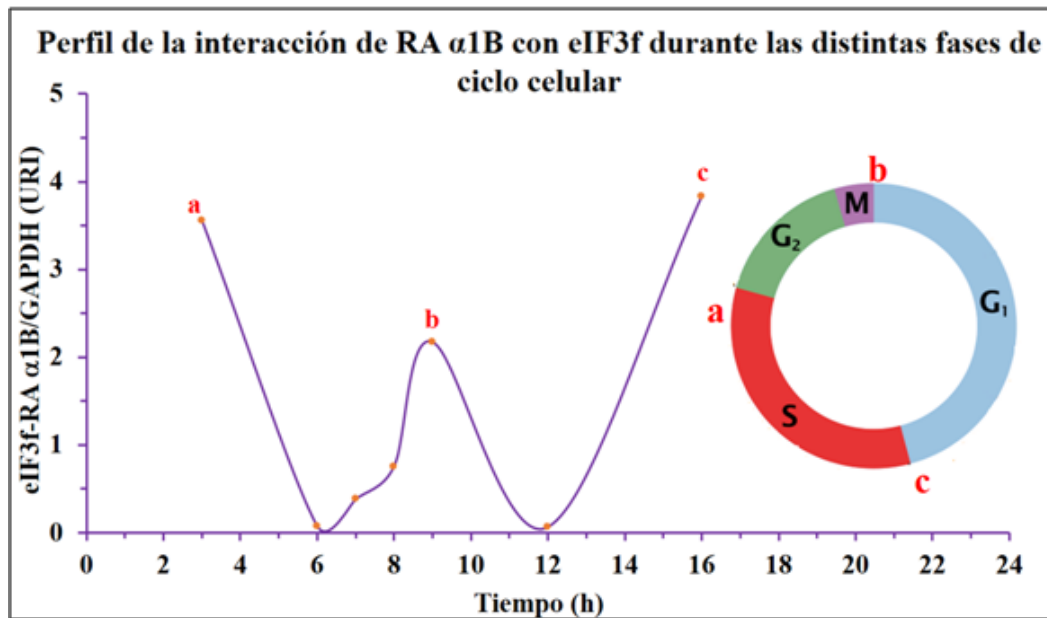


Figura 5. Perfil de la interacción del RA α 1B con eIF3f durante el ciclo celular en cultivo sincrónico de A549. El cultivo fue liberado del agente sincronizante a la hora cero. Se normalizaron las determinaciones de la interacción del RA α 1B con eIF3f con su correspondiente control interno de GAPDH.

Tabla 1. Resumen de resultados de expresión de las proteínas eIF3f y RA α 1B, y de la interacción física eIF3f / RA α 1B durante las distintas fases del ciclo celular.

Máximos de expresión eIF3f				
Fase		M		S
horas		7h		24h

Máximos de expresión de RA α 1B				
Fase	S/G2	M	M/G1	G1/S
horas	3h	7h	9h	16h

Interacción eIF3f-RA α 1B	
Fase-horas	S/G2=3h, M/G1=9h y G1/S 16h

CONCLUSIONES

Los resultados indican que el RA α 1B no presenta una expresión constitutiva, sino que fluctúa mostrando mayor expresión en las transiciones de las fases G1/S, S/G2 y M/G1, y en la fase M del ciclo celular. Respecto a la interacción del RA α 1B con eIF3f durante el ciclo celular, estas interacciones se presentan en la transición G1/S, S/G2 y M/G1.

BIBLIOGRAFÍA

1. P. Gonzalez-Cabrera, T. Shi, J. Yun, D. F. McCune, B. R. Rorabaugh, D. M. Perez, "Differential Regulation of the Cell Cycle by α 1-Adrenergic Receptor Subtypes", *Endocrinology.*, Vol.145, 11, 2004, pp. 5157-5167.
2. M. J. Gutiérrez-Fernández, A. E. Higareda-Mendoza, C. A. Gómez-Correa, M. A. Pardo-Galván, "The eukaryotic translation initiation factor 3f (eIF3f) interacts physically with the

- alpha 1B-adrenergic receptor and stimulates adrenoceptor activity”, *BMC Biochem.*, Vol. 16, 25, 2015, pp. 1-10.
3. A. E. Higareda-Mendoza, M. A. Pardo-Galván, “Expression of human eukaryotic initiation factor 3f oscillates with cell cycle in A549 cells and is essential for cell viability”, *Cell Div.*, Vol. 5, 10, 2010 pp. 1-13.
 4. F. Strittmatter, S. Walther, A. Roosen, B. Rutz, B. Schlenker, S. Limmer, S. Waidelich, C. G. Stief, C. Gratzke, M. Hennenberg, “Activation of protein kinase B/Akt by alpha1-adrenoceptors in the human prostate”, *Life Sci.*, Vol. 90, 11-12, 2012, pp. 446-453.
 5. P. Jiménez-Alcántar, “Identificación de la vía de transducción de señales modulada por la interacción eIF3f/Receptor adrenérgico- α 1B en células humanas”, Tesis de Maestría en Ciencias de la Salud, UMSNH, 2013, pp 1-86.

PRODUCCIÓN ORGÁNICA DE CILANTRO (CORIANDRUM SATIVUM L.).

Kevin Rodrigo Ballesteros López, María Socorro Orozco Almanza, Roberto Ramos Gonzáles y
María de Jesús Rojas Cortés

FES Zaragoza, UNAM. kerobalo_123@hotmail.com

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue el de utilizar la doble excavación para cultivar cilantro (*Coriandrum sativum* L.) intercalado con perejil (*Petroselinum sativum* Hoffm.) con dos manejos agroecológicos diferentes, aplicación de materia orgánica fresca (MO) y bocashi (BO), como biofertilizantes. El cultivo se realizó en invernadero, durante la temporada otoño-invierno. Se utilizaron cuatro parcelas de 3m² (dos repeticiones por tratamiento), dos para MO (30kg/m²) y dos para BO (10kg/m²). La siembra fue directa con una densidad de 28 semillas por surco. Al día 49 después de la siembra, se obtuvo una mejor emergencia de plántulas de cilantro, en el tratamiento con MO, con 54.9% en relación al 36% con BO. La mortandad fue mayor en BO (15%). La altura de las plantas de cilantro fue de 53.5cm con MO y de 49.5 con BO. El Rendimiento total obtenido después de 3 meses de cultivo fue de 3 kg/m² con MO y de 1.75 kg/m², con BO. Por lo que se concluye que el cultivo orgánico de cilantro con la aplicación de materia orgánica fresca, como un biofertilizante, incrementa el rendimiento del cilantro en un 57%, comparado con el rendimiento obtenido con Bocashi; sin embargo este último acumula menos nitratos en hojas y presenta el mismo contenido en grados Brix, que el cultivo con materia orgánica.

INTRODUCCIÓN

El cilantro (*Coriandrum sativum* L.) pertenece a la familia Apiaceae, se puede plantar en cualquier época del año, principalmente en climas templados, y 40 días después, se cosechan las hojas (López & Vázquez, 2014). De alta producción en México, específicamente en los estados de Puebla, Baja California y Zacatecas, colocando a México como el 4to productor de cilantro a nivel mundial (Hernández, 2003).

En México, el cilantro juega un papel indispensable en la dieta del mexicano. Su producción extensiva se practica en muchas zonas secas y semisecas del país, donde en ocasiones se ve sometida al riego con aguas residuales, debido a la mayor disponibilidad de esta agua para los agricultores, y al aporte nutrimental de estas, que son usadas como opción de fertilizante (Winpenny, Heinz y Koo- Oshima, 2013; Hernández, Quiñones et al., 2014). Las aguas de reúso, principalmente efluentes tratados, que contienen bacterias, virus, quistes de protozoarios y huevos de helmintos, *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. (Sandoval et al., 2014) son las aguas más usadas por los agricultores. Desafortunadamente para el consumidor, el 54% del agua residual en México no recibe tratamiento, y es en dichas condiciones como es usada para el riego (Robledo et al., 2014) La normatividad mexicana (NOM-001-ECOL-1996) exige más tratamiento para regar parques y áreas de recreo que para regar cereales y forrajes.

Una alternativa, es cultivar esta hortaliza bajo prácticas agroecológicas, utilizando abonos orgánicos como biofertilizantes, los cuales pueden cubrir las necesidades nutrimentales del cultivo, sin necesidad de recurrir a fuentes altamente contaminantes como las aguas negras. Las prácticas agroecológicas buscan la disminución y erradicación de la dependencia a los insumos agroquímicos, así como asemejar los ecosistemas naturales en los sistemas productivos (Astier et al., 2017). Los abonos orgánicos aportan nutrientes a la planta y a la microbiota del suelo, mejorando además la estructura del suelo, la porosidad, la adsorción e intercambio de iones, la liberación de nutrientes por mineralización y los cambios de pH (Ramos et al., 2014).

El objetivo de este trabajo fue utilizar dos biofertilizantes para cultivar cilantro con el fin de evaluar la emergencia, el crecimiento, rendimiento, y la calidad morfológica y fisiológica de las plantas.

TEORIA

La Agricultura Orgánica es un sistema de producción que se basa en el respeto a los recursos naturales que el medio ambiente proporciona, restringiendo el uso de plaguicidas, herbicidas, fertilizantes sintéticos, hormonas de crecimiento, antibióticos y organismos genéticamente modificados (Marquez, 2013). También busca la disminución y erradicación de la dependencia a los

insumos agroquímicos, así como asemejar los ecosistemas naturales en los sistemas productivos (Astier et al., 2017).

Es a través de la Agricultura Orgánica que se propone el uso de abonos orgánicos para el aporte de nutrientes a la planta y al suelo. Los abonos orgánicos surgen de la descomposición natural de la M.O. por microorganismos presentes en el medio, los cuales transforman la materia para liberar nutrimentos al suelo (Ramos et al., 2014).

La materia Orgánica (MO) es cualquier material de origen animal o vegetal que regresa al suelo después de ser descompuesto por microorganismos. Este puede constituirse por hojas, raíces, exudados, estiércoles, orín, plumas, bacterias, hongos, nematodos, entre otros muchos más, que una vez depositados en el suelo, son atacados por microorganismos, para generar calor, agua, micro y macro nutrimentos, aminoácidos, ácidos húmicos, moléculas orgánicas menos complejas, biomasa, entre otros (Román et al., 2013). Por otro lado, el Bocashi (BO), que significa “materia orgánica fermentada” se utiliza para aumentar la cantidad de microorganismos en el suelo, así como mejorar las características físicas y nutrimentos para las plantas, libera los nutrientes de manera soluble para la planta, y proporciona un pH entre 6.5 y 7 (Ramos et al., 2014; MAGAP, 2014). Para la elaboración del Bocashi se lleva a cabo un proceso de semi- descomposición aeróbica de residuos orgánicos, por microorganismos, este nutre al suelo y fertiliza a la planta (Félix et al., 2008).

La incorporación de los abonos orgánicos y materia orgánica al suelo, depende de un buen manejo durante la preparación de la cama de siembra o parcela y la doble excavación que es uno de los siete principios del método biointensivo, propuesto por Jeavons (2000), es una práctica que asegura el éxito en el establecimiento hortícola, ésta práctica incrementa el espacio poroso en el suelo, aumentando su aireación y actividad microbiológica, ésto facilita el crecimiento de las raíces de las plantas, facilitando su desarrollo.

PARTE EXPERIMENTAL

El experimento se realizó en el Vivero Chimalxochipan de la Unidad de Investigación en Ecología Vegetal, Campo II de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, en la Ciudad de México, durante la temporada otoño-invierno de 2017, bajo condiciones de invernadero. Para evaluar el efecto de los dos biofertilizantes (Materia Orgánica fresca y Bocashi), se preparó una cama biointensiva de 12 m². Esta cama fue dividida en cuatro secciones, cada una de 3m². Dos camas fueron asignadas para el tratamiento con MO y los otros dos para el BO.

En el tratamiento de MO, tanto para cilantro como para perejil, se aplicaron al suelo de origen, 100kg de materia orgánica fresca (desechos domésticos de cocina) 24g de zeolita y 40g de cascarón de huevo, utilizando la doble excavación (Jeavons, 2000). En el tratamiento de BO, se colocaron 10 kg de bocashi por m², esparcidos sobre la superficie de la cama de siembra (Fig. 1).



Figura 1. Preparación de camas a través de doble excavación, con aporte de Materia Orgánica fresca.

Cada cama se dividió en 16 surcos de 1m de ancho, donde se sembró de manera intercalar un surco con perejil y otro con cilantro. Dando un total de ocho surcos de cilantro y ocho de perejil, con una densidad de siembra de 28 semillas/ surco. El riego se realizó por goteo. Después de la emergencia de las plantas de ambos cultivos, y después quincenalmente hasta la cosecha, se aplicó una biofertilización adicional, regando con 8L de té de materia orgánica y 8L de té de bocashi, en cada tratamiento respectivo, como una solución a la clorosis presente en las plantas de cilantro, la cual fue de esta manera exitosamente corregida.

Se evaluaron quincenalmente además en 21 plantas de cilantro de cada tratamiento elegidas al azar, la altura de la planta y el diámetro del tallo principal. El cilantro se cosechó a los 80 días después de la siembra y en 21 plantas se evaluaron: longitud de vástago, longitud de raíz, diámetro del tallo principal, número de tallos, peso de vástago, peso de raíz, peso seco de vástago, peso seco de raíz, cobertura de la planta, razón raíz/ vástago y tasa de crecimiento relativo. Se determinó el contenido de grados Brix y nitratos en hojas. Se calculó el rendimiento con base al peso húmedo de las plantas por m².

RESULTADOS

La emergencia de las plántulas de cilantro en los diferentes tratamientos (cama abonada con materia orgánica vs cama abonada con bocashi) se presentó entre los 14 y 28 días después de la siembra (dds) (Fig. 2 y 3). Las plántulas abonadas con MO, presentaron un mayor porcentaje de emergencia (55%), comparadas con las abonadas con BO (40%) (Fig. 2). Así mismo, las plántulas de BO presentaron mayor mortandad (15%), en tanto que las plántulas de MO solo presentaron una mortandad de 3.61% (Fig. 4).

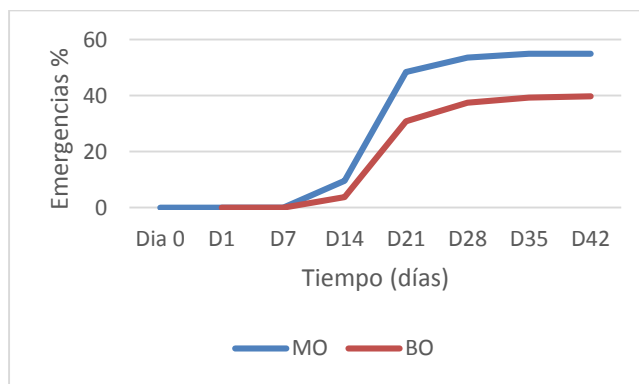


Fig. 2 Curva de emergencia acumulada para el cilantro con dos biofertilizantes (MO y BO).



Fig. 3. Emergencia de cilantro sobre la parcela abonada con MO.

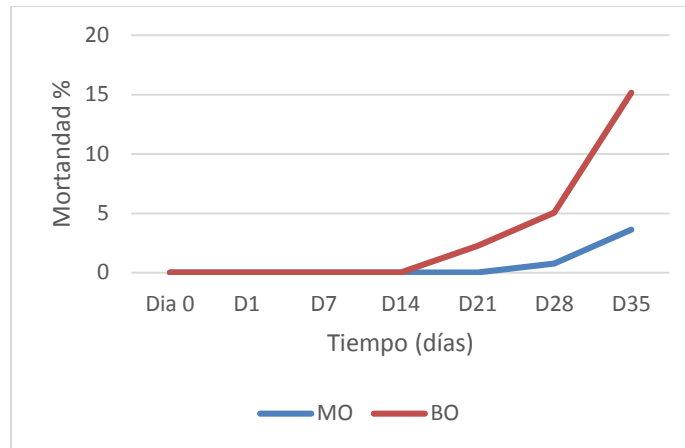


Fig. 4 Mortandad de plántulas de cilantro en tratamientos de Mo y de BO.

La altura de las plantas de cilantro presentaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos de MO y BO (Fig.5). Las plantas alcanzaron entre 53.5 y 49.5 cm a los 88 dds, momento en que se cosechó (Fig. 5).

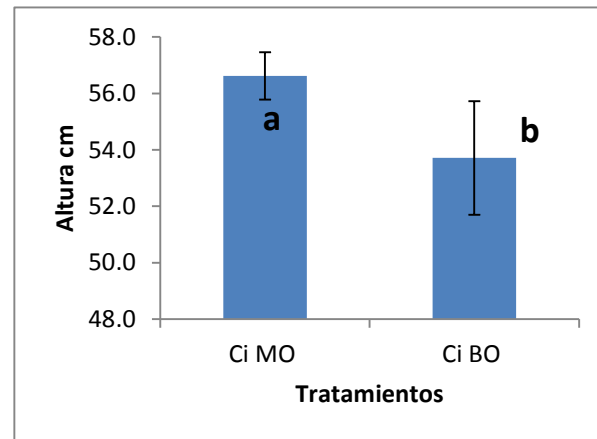


Fig. 5 Altura final de cilantro, al momento de la cosecha, bajo dos tratamientos diferentes: Materia Orgánica fresca (CiMO) y Bocashi (CiBO). Literales diferentes entre columnas, representan diferencias estadísticas. (ANOVA $F = 7.44$, $P = 0.0001$).

La cobertura del cilantro también presentó diferencias significativas ($p \leq 0.05$), entre tratamientos al momento de la cosecha (Fig.6).

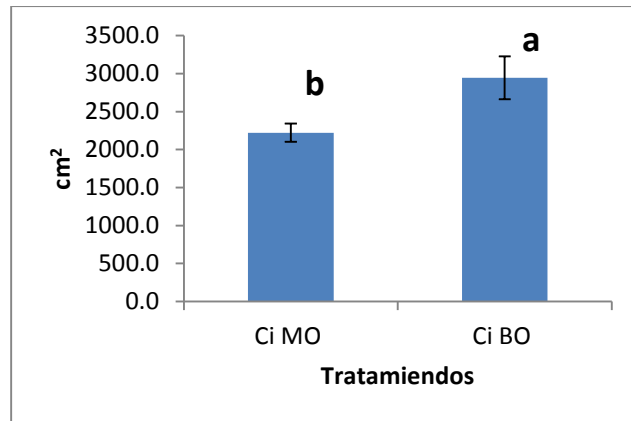


Fig. 6 Cobertura final de cilantro, al momento de la cosecha, bajo dos tratamientos diferentes: Materia Orgánica fresca (CIMO) y Bocashi (CIBO). Literales diferentes expresan diferencias significativas (ANOVA $F= 17.18$, $P=0.000001$).

La tasa de crecimiento relativo de las plantas de cilantro no presentó diferencias significativas ($p \geq 0.05$) entre tratamientos (Fig. 7).

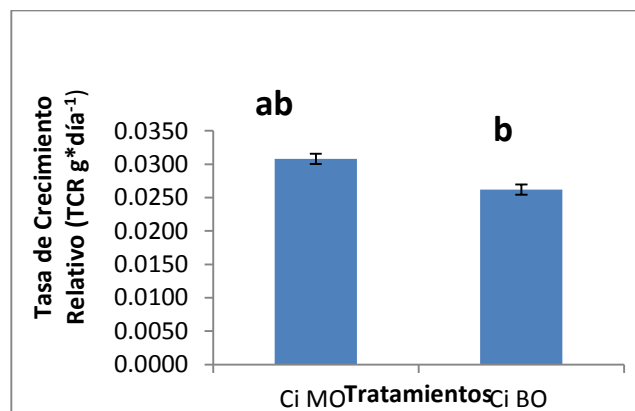


Fig. 7 Tasa de crecimiento relativo de cilantro, al momento de la cosecha, bajo dos tratamientos diferentes: Materia Orgánica fresca (CIMO) y Bocashi (CIBO). Literales diferentes entre columnas, expresan diferencias estadísticas. (ANOVA $F=7.67$, $P=0.000143$).

El peso húmedo del vástago de las plantas de cilantro cilantro, así como el peso seco del vástago no presentaron diferencias significativas ($p \geq 0.05$) entre tratamientos (Fig. 8 y 9), con valores al momento de la cosecha de 77.7g para MO y de 61.8g para BO en peso húmedo; y de 7.4g para MO y de 6.1 para BO en peso seco.

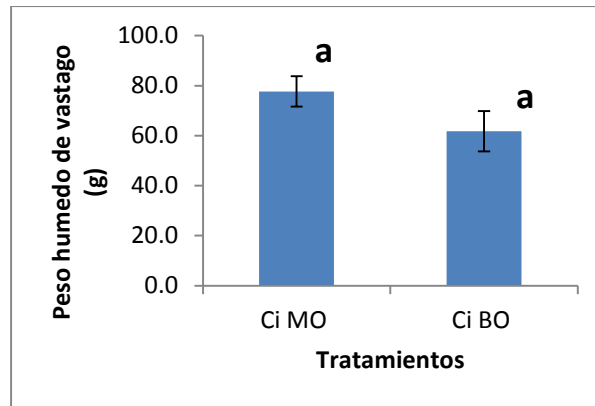


Fig. 8 Peso húmedo de vástago de cilantro, al momento de la cosecha, bajo dos tratamientos diferentes: Materia Orgánica fresca (CIMO) y Bocashi (CIBO). Literales diferentes entre columnas, expresan diferencias estadísticas. (ANOVA $F = 1.29$, $P = 0.28$).

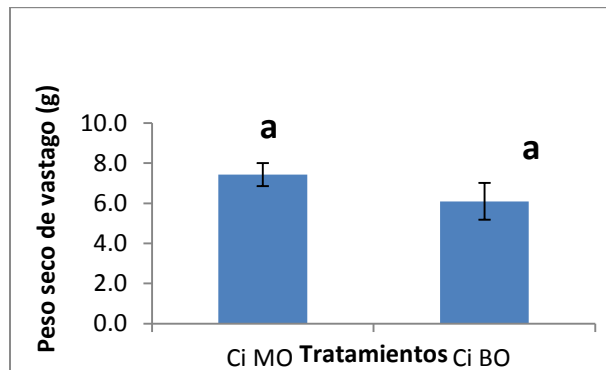


Fig. 9 Peso seco de vástago de cilantro, al momento de la cosecha, bajo dos tratamientos diferentes: Materia Orgánica fresca (CIMO) y Bocashi (CIBO). Literales diferentes entre columnas, expresan diferencias estadísticas. (ANOVA $F = 0.68$, $P = 0.569$).

La razón raíz vástago no presentó diferencias significativas ($p \geq 0.05$). Con valores de 0.1 en ambos casos (Fig. 10). Los dos biofertilizantes permiten un desarrollo equilibrado entre la raíz y el vástago.

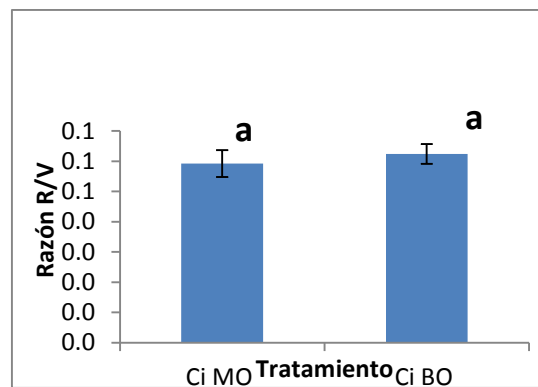


Fig. 10 Razón raíz vástago de cilantro, al momento de la cosecha, bajo dos tratamientos diferentes: Materia Orgánica fresca (CIMO) y Bocashi (CIBO). Literales diferentes entre columnas, expresan diferencias estadísticas. (ANOVA $F = 2.35$, $P = 0.078$).

El rendimiento de cosecha para el cilantro no presentó diferencias significativas ($p \geq 0.05$), entre tratamientos (Fig. 12). A pesar de que la MO presentó mayor rendimiento, con 2340.3g; frente a los 2014.0g del BO con valores promedios (Fig. 12). En la Figura 13 se observan las camas de cilantro antes de ser cosechadas.

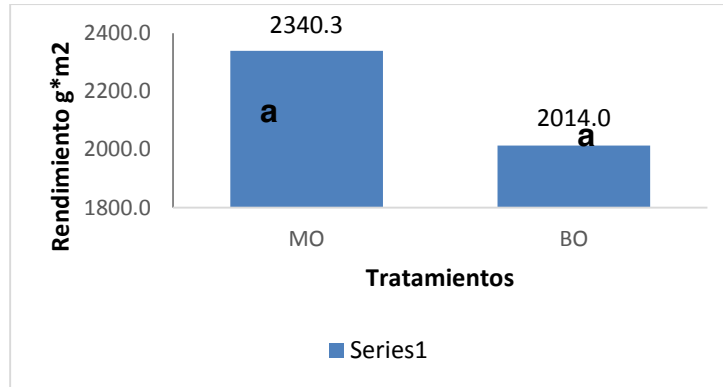


Fig. 11 Rendimiento de Cilantro, al momento de la cosecha, bajo dos tratamientos diferentes: Materia Orgánica fresca (CIMO) y Bocashi (CIBO). Literales diferentes entre columnas, expresan diferencias estadísticas. (ANOVA $F=7.51$, $P=0.013$).



Fig. 12 Camas de Cilantro antes de la cosecha.

La concentración de nitratos en hojas resultó menor significativamente en las plantas cultivadas con BO (1750 ppm) (Fig. 13) en relación a las hojas de las plantas abonadas con MO (3500 ppm).

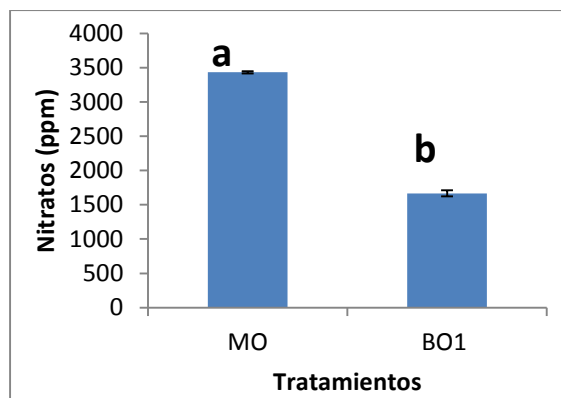


Fig. 13 Porcentaje de nitratos vástago en cilantro, al momento de la cosecha, bajo dos tratamientos diferentes: Materia Orgánica fresca (CIMO) y Bocashi (CIBO). Literales diferentes entre columnas, expresan diferencias estadísticas. (ANOVA $F=1404.5$, $P=0.000003$).

Los grados Brix en las plantas de cilantro no presentaron diferencias significativas ($p \geq 0.05$) entre tratamientos. Alcanzaron valores de 7.75 en MO y de 6.5 en BO (Fig. 14), lo cual en ambos casos está dentro del rango aceptable que marca la literatura.

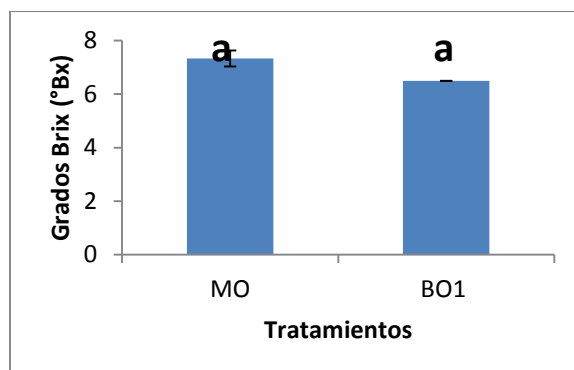


Fig. 14 Grados Brix en cilantro, al momento de la cosecha, bajo dos tratamientos diferentes: Materia Orgánica fresca (CIMO) y Bocashi (CIBO). Literales diferentes entre columnas, expresan diferencias estadísticas. (ANOVA $F=7.69$, $P=0.05$).

CONCLUSIONES

La MO fresca como biofertilizante, mejoró la emergencia de las plántulas de cilantro, redujo la mortandad, mejoró la altura del vástago, pero no la cobertura, y presentó un mayor rendimiento, a pesar de que las hojas presentaron un contenido alto de nitratos, los cuales pueden ser dañinos para la salud.

El BO como biofertilizante presentó menores valores para las variables antes mencionadas, pero presentó valores similares al biofertilizante de MO fresca en tasa de crecimiento relativo, peso húmedo del vástago, razón r/v y grados Brix, sin embargo el contenido de nitratos en hojas fue significativamente menor y aceptable para la salud humana.

Los grados Brix de las hojas del cilantro, cultivado con biofertilizantes de MO y BO presentaron valores aceptables y, en el rango promedio a buenos.

BIBLIOGRAFÍA

1. G. López & C. Vázquez, "Cultivo de Cilantro", SAGARPA, Revisado en línea en el link: www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/distritofederal/Documents/.../CILANTRO.pdf, 2014.

2. J. Hernandez, "Crecimiento y Desarrollo del Cilantro *Coriandrum sativum* L. por efecto del fotoperiodo y la temperatura y su control con fitoreguladores" (Tesis de Doctorado). UANL, Nuevo León, 2003.
3. J. Winpenny, I., Heinz, & S. Koo-Oshima, "Reutilización del agua en la agricultura: ¿Beneficios para todos?" en FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Roma, 2013), pp. 1-114.
4. E. Hernández-Acosta, Quiñones-Aguilar, E. Evangelina, D. Cristóbal-Acevedo, & J. Rubiños-Panta, "Calidad biológica de aguas residuales utilizadas para riego de cultivos forrajeros en Tulancingo, Hidalgo, México", *Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente*, Vol. 20,1, 2014, pp. 89-100.
5. L. Sandoval. "Cultivo de Hortalzas con agua residuales tratados, 2014.
6. V. Robledo, M. Velázquez, J. Montañez, J. Pimentel, A. Vallejo, M. López, & J. Venegas "hidroquímica y contaminantes emergentes en aguas residuales urbano industriales de Morelia, Michoacán, México", *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, Vol.33,2, 2017, pp.221-235.
7. Nom-001-ecol-1996
8. C. M. Astier, Q. Argueta, Q. Orozco-Ramírez, S. M. V. González, H. J. Morales, P. R. W. Gerritsen, & C. D. Sánchez-Sánchez, "Historia de la agroecología en México". *Agroecología*, Vo. 10,2, 2017, pp.9-17.
9. D. Ramos Agüero, & E. A. Terry, "Generalidades de los abonos orgánicos: Importancia del Bocashi como alternativa nutricional para suelos y plantas", *Cultivos Tropicales*, Vol.35,4, 2014, pp.52-59.
10. G. Márquez Márquez, "Cultivo biointensivo de cilantro (*coriandrum sativum*, l.) y albahaca (*ocimum basilicum* l.) utilizando lombricomposta como sustrato, en condiciones de invernadero" (Licenciatura). (UNAM, México, DF, 2013).
11. P. Roman, M. Martínez, y A. Pantoja, "Manual de compostaje del agricultor. Experiencias en América Latina" en Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura -FAO- (FAO., Santiago de Chile, 2013).
12. MAGAP, "Elaboración, uso y manejo de abonos orgánicos" en Ministerio de Agricultura, Ganadería, acuacultura y Pesca. (MAGAP, Ecuador, 2014).
13. J. Félix, R. Sañudo, G. Rojo, R. Martínez & V. Olalde, "Importancia de los abonos orgánicos", *Ra Ximhai*, Vol. 4,1, 2008. pp.47-67.

REVISIÓN DE LOS GÉNEROS MONOESPECÍFICOS EN LA FAMILIA CAPITELLIDAE GRUBE, 1862 (ANNELIDA, POLYCHAETA).

* María Elena García-Garza., Jorge A. Villarreal-Garza

Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Biosistemática maria.garciagza@uanl.edu.mx

*Autor para correspondencia: maria.garciagza@uanl.edu.mx

RESUMEN

Existen algunos géneros que son monoespecíficos, este adjetivo describe los géneros que contienen una sola especie, como el caso de la familia Capitellidae, que actualmente incluye 18 géneros monoespecíficos. Posiblemente, una de las familias con más géneros monoespecíficos, quizá por la división genérica con base en el número de segmentos torácicos y abdominales, y en la presencia de setas capilares y/o ganchos cubiertos que se van modificando durante el desarrollo. Se analizó el estatus taxonómico de los géneros monoespecíficos de la familia Capitellidae, examinando material tipo y bibliográfico. El análisis evidenció que los géneros *Dodecamastus*, *Pseudoleiocapitella* y *Pseudomastus*, presentan la misma fórmula setal. Otros géneros fueron descritos con organismos muy pequeños, posiblemente en alguna etapa temprana de su desarrollo. Este análisis nos lleva a concluir la necesidad de re-describir y sinonimizar algunos géneros como *Neonotomastus* y *Dodecamastus*, *Pseudoleiocapitella* y *Pseudomastus* respectivamente.

Palabras clave: Annelida, Capitellidae, géneros, monoespecíficos,

INTRODUCCIÓN

El concepto de género y su vocablo fueron establecidos por Joseph Pitton de Tournefort en los años 1656-1708. El género se ubica entre la familia y la especie. Un género es un grupo de organismos que a su vez, puede estar formado por una o varias especies. Existen algunos géneros que son monoespecíficos, este adjetivo describe a los géneros que contienen una sola especie; De acuerdo a la información obtenida de la base de datos de Worms World Register of Marine Species, la familia Capitellidae actualmente incluye 18 géneros monoespecíficos: *Abysocapitella* Buzhinskaja & Smirnov, 2000; *Anotomastus* Hartman, 1947; *Baldia* Garwood & Bamber, 1988; *Capitobranchnus* Day, 1962; *Dodecamastus* Blake, 2000, *Leiocapitellides* Hartmann-Schröder, 1960; *Leiochrus* Ehlers, 1908; *Lumbricomastus* Thomassin, 1970; *Neonotomastus* Fauchald, 1972; *Nonatus* Amaral, 1980; *Neopseudocapitella* Rullier & Amourex, 1979; *Octocapitella* Brown, 1987; *Paracapitella* Kirkegaard, 1983; *Parheteromastides* Hartmann-Schröder, 1962; *Parheteromastus* Monro, 1937; *Pseudomastus* Capaccioni & Martín, 1992; *Pseudoleiocapitella* Harmelin, 1964 y *Undecimastus* Amourex, 1983. Probablemente Capitellidae es una de las familias con más géneros monoespecíficos, quizá por la división genérica con base en el número de segmentos torácicos y abdominales, y en la presencia de setas capilares y/o ganchos cubiertos que se van modificando durante el desarrollo. El objetivo de este trabajo fue conocer y analizar el estatus taxonómico de los géneros monoespecíficos de la familia Capitellidae.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se examinó material tipo del Museum National d'Historie Naturelle de París (MNHN), *Neopseudocapitella* (MNHNPOLY TYPE 1301) y el Museum of Natural History, Allan Hancock Foundation Los Angeles County (LACM-AHF) *Anotomastus* (LACM AHF POLY 1450-42) y *Neonotomastus* (LACM AHF POLY 1027) los siguientes géneros se analizaron en base a su descripción original: *Abysocapitella*, *Baldia*, *Capitobranchnus*, *Dodecamastus*, *Leiocapitellides*, *Leiochrus*, *Lumbricomastus*, *Nonatus*, *Octocapitella*, *Paracapitella*, *Parheteromastides*, *Parheteromastus*, *Pseudomastus*, *Pseudoleiocapitella* y *Undecimastus*. Se realizaron observaciones y comparaciones entre cada género, utilizando especímenes o descripciones originales. El análisis se basó principalmente en el número de segmentos con setas capilares o mezcla de setas (capilares y ganchos) en los segmentos torácicos, por ser este carácter uno de los más importantes en la identificación de géneros.

RESULTADOS y CONCLUSIONES

La necesidad de hacer una revisión taxonómica de los géneros monotípicos de la familia Capitellidae, se debe principalmente a las irregularidades que algunos géneros evidenciaron en la descripción original y el espécimen. Como el caso del espécimen *Neonotomastus*, podemos observar que presenta diferencias entre la descripción original y la morfología. Fauchald (1972) menciona que presenta 10 segmentos con setas capilares. Sin embargo al examinar el material tipo, encontramos que el tórax presenta 11 segmentos con setas capilares (Fig. 1 A), por lo que difiere de la descripción, las características de los segmentos abdominales concuerdan con la descripción. De acuerdo a lo observado el espécimen de *Neonotomastus* podría ser re ubicado taxonómicamente dentro del género *Mastobranchus*. Recomendamos hacer una re descripción de la especie tipo, incluyendo especímenes recolectados de la localidad tipo, para esclarecer sus estatus taxonómico.

A partir de la información y análisis bibliográfico de los géneros *Dodecamastus*, (Fig. 1 B) *Pseudoleiocapitella* (Fig. 1 C) y *Pseudomastus* (Fig. 1 D), observamos que presentan la misma fórmula setal: tórax con 10 segmentos con setas capilares y segmentos 11 y 12 con mezcla de setas (capilares y ganchos) y esta distribución de setas corresponde a las especies incluidas en el género *Leiochrides* Augener, 1914 (Fig. 1 E). Lo que nos lleva a concluir la necesidad de re-describir y reubicar las especies de los géneros *Dodecamastus*, *Pseudoleiocapitella* y *Pseudomastus* dentro del género *Leiochrides*.

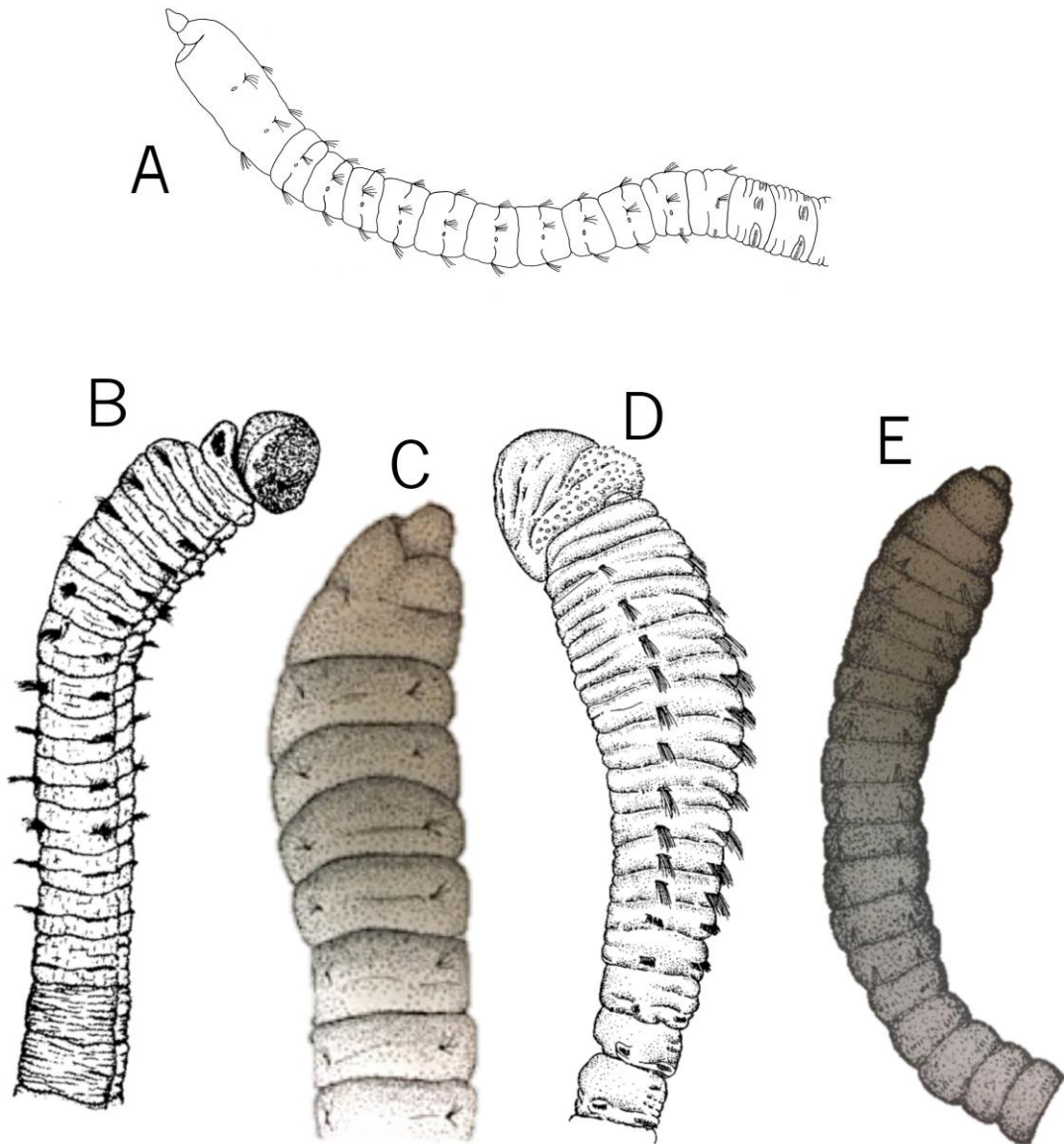


Figura 1. A) *Neonotomastus glabrus*, B) *Dodecamastus mariaensis*, C) *Pseudoleiocapitella fauveli*, D) *Pseudomastus deltaicus* E), *Leiochrides australis*.

Los géneros *Undecimastus* (Fig. 2A) y *Parheteromastides* (Fig. 2B) fueron descritos con organismos muy pequeños, aproximadamente entre 3.5 y 4.5 mm de largo, posiblemente en alguna etapa temprana de su desarrollo, por lo que su estatus taxonómico es poco confiable.

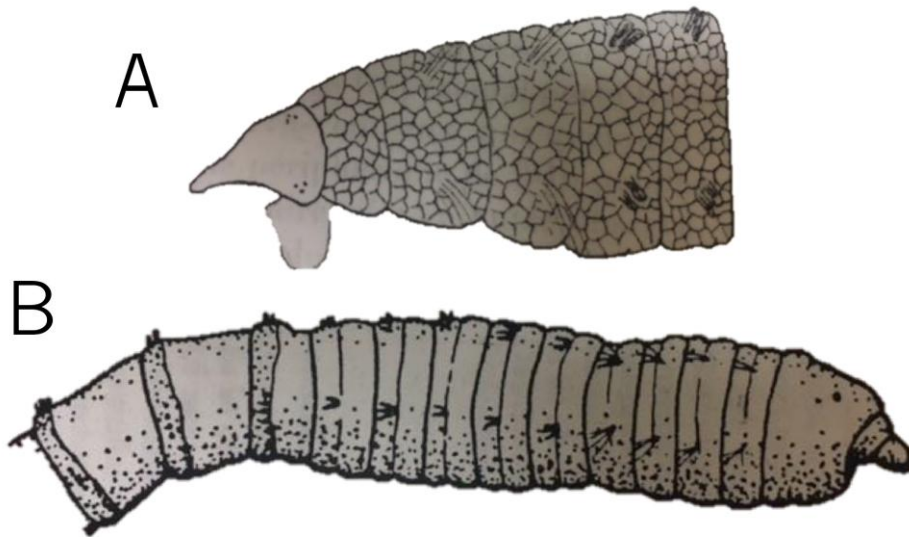


Figura 2. A) *Undecimastus sinaiticus* , B) *Parheteromastides multioculatus*

El género *Paracapitella* (Fig. 3 A) presenta la misma fórmula setal que el género *Capitella* (Fig. 3 B) de acuerdo al análisis, sugerimos reubicar la especie de *Paracapitella* al género *Capitella*.



Figura 3. A) *Paracapitella pettiboneae* B) *Capitella capitata*

El género *Baldia* (Fig.4A) presenta 9 segmentos con ganchos cubiertos característica que también presenta el género *Amastigos*, (Fig. 4B) por lo que recomendamos hacer una reubicación de las especies del género *Baldia* en *Amsatigos*.



Figura 4 A) *Baldia johnstoni* B) *Amastigos acutus*

El crear géneros con organismos muy pequeños y en el caso particular de la familia Capitellidae, en donde presentan cambios considerables durante las distintas etapas de su desarrollo, las cuales son poco conocidas, aunado que son organismos sin muchas estructuras morfológicas; lo cual dificulta su determinación, ya que las diferencias entre especies de un mismo género e incluso entre géneros son escasas, a nivel de estructuras observables a simple vista o bajo la óptica del microscopio y por ello, en ocasiones, organismos de una misma especie pueden ser ubicados en distintos géneros durante las etapas inmaduras, ocasionando un sin número de errores taxonómicos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Amaral, A.C.Z. Breve caracterização dos gêneros da família Capitellidae Grube (Annelida, Polychaeta) e descrição de *Nonatus longilineus* gen. sp. nov. Boletim do Instituto Oceanográfico, São Paulo. 1980, 29(1): 99-106.
2. Amoureux, Louis. Annélides Polychètes du golfe d'Aqaba (Mer Rouge). Description d'un genre nouveau et de deux espèces nouvelles. Bulletin du Muséum d'Histoire Naturelle, Paris. (series 4) 1983, 5(3): 723-742.
3. Blake J.A. Family Capitellidae Grube, 1862. In: Blake JA, Hilbig B, Scott PV (ed) Taxonomic Atlas of the Benthic Fauna of the Santa Maria Basin and the Western Santa Barbara Channel. Volume 7. The Annelida Part 4, Polychaeta: Flabelligeridae to Sternaspidae. Santa Barbara Museum of Natural History, California, 2000, p 47–96.
4. Brown, Betsy. A new genus and species of Capitellidae (Polychaeta) from the Atlantic coast of the United States. Bulletin of the Biological Society of Washington. 1987, 7: 56-61.
5. Buzhinskaja, G.N., Smirnov, R.V. *Abyssocapitella commensalis* gen. et sp. n. associated with the deep-sea pogonophore *Spirobrachia leospira* Gureeva, 1975 (Polychaeta: Capitellidae). Ophelia. 2000, 52(3): 171-176.
6. Day J.H. Polychaeta from several localities in the western Indian Ocean. Proc. Zool. Soc., Lond. 1962, 139(4) 627-656.
7. Ehlers, E. Die bodensässigen Anneliden aus den Sammlungen der deutschen Tiefsee-Expedition. 1-168. IN: Chun, Carl (Ed.). Wissenschaftliche Ergebnisse der Deutschen Tiefsee-Expedition auf dem Dampfer "Valdivia" 1898-1899. 1908, 16(1): 1-168, plates I-XXIII.
8. Fauchald, K. Benthic polychaetous annelids from deep water off Western Mexico and adjacent areas in the Eastern Pacific Ocean. Allan Hancock Monographs in Marine Biology. 1972, 7:1-575.

9. Fauvel, P. Quatrième note préliminaire sur les Polychètes provenant des campagnes de l'Hirondelle et de la Princesse-Alice, ou déposées dans le Musée Océanographique de Monaco. Bulletin de l'Institut Océanographique de Monaco. 1913, 270: 1-80.
10. Garwood, P.R., Bamber, R.N..A new genus and species of capitellid polychaete from Northeast England. Ophelia. 1988, 29(2): 119-126.
11. Hartman O. Polychaetous annelids Part VII. Capitellidae. Allan Hancock Pac Exped. 1947, 10:391-481.
12. Hartmann-Schröder, G. Polychaeten aus dem Roten Meer. Kieler Meeresforschungen, 1960, 16(1): 69-12.
13. Hartmann-Schröder, G. Zweiter Beitrag zur Polychaetenfauna von Peru. Kieler Meeresforschungen, 1962, 18(1): 109-147.
14. Monro, Charles C. A. On two new polychaetes from the Indian Ocean. Annals and Magazine of Natural History. (Series 10) 1937, 19(113): 531-538.
15. Kirkegaard, Jørgen B. Bathyal benthic polychaetes from the N.E. Atlantic Ocean, S.W. of the British Isles. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 1983, 63: 593-608.
16. Rullier, F. and Amoureux, L. Campagne de la Calypso au large des côtes Atlantiques de l'Amérique du Sud (1961-1962). I. 33. Annélides Polychètes. Annales de l'Institut océanographique, 1979, 55: 145-206.
17. Thomassin B.A. Contribution a l'étude des polychètes de la région de Tuléar (S.W. de Madagascar) II. quelques Aphroditidae des sables coralliens. Rec. Trav. Sta Mar d'Endoume Supplément 1970, 10:47-69.
18. Warren, L.M., Parker, M. *Pseudonotomastus southerni* gen. nov. sp. nov., a new capitellid from the Celtic Sea. Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle, Zoologie. 1994, 162: 299-306.

ANÁLISIS MORFOGEOMÉTRICO DE LA DIVERSIDAD DE OTOLITOS EN PECES DE IMPORTANCIA PESQUERA DE LA COSTA DE PUERTO ÁNGEL, OAXACA

Zamira Anahí Ávila Valle, Marcia María Ramírez Sánchez e Isaías Hazarmabeth Salgado Ugarte

Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, *campus II* zamira_avila@hotmail.com

RESUMEN

Los otolitos son estructuras calcáreas ubicadas en el oído interno de los vertebrados, que en el caso de los peces, pueden utilizarse para evaluar rasgos como la edad de los organismos o la composición de especies de un stock. La morfometría geométrica es una herramienta que permite analizar el cambio de forma de los organismos y que en los peces se ha aplicado con éxito en la discriminación de formas intra- e inter- poblacionales, en la estimación de la biodiversidad y en la identificación de los integrantes de un stock así como en la evaluación de la relación de la morfología con diversos aspectos biológicos. En este trabajo se analizó el cambio de forma del sulco acústico en otolitos de 15 especies de 11 familias de peces de la costa de Puerto Ángel, Oaxaca para reconocer patrones de variación característicos de algún nivel taxonómico como Familia, Género o Especie. Por medio de un análisis de variables canónicas (CVA), se evaluó el sulco acústico de 66 individuos, a los que se les colocaron dos marcas y 60 semimarcas. Los resultados del CVA, considerando el nivel de Familia como variable de agrupamiento, indicaron la existencia de 11 formas de sulco diferentes. Gráficamente y se observa la separación de cinco familias (Scianidae, Balistidae, Scaridae, Ophichthidae y Paralichthyidae). La gradilla de deformación, por otro lado, muestra que tanto la zona del collum como de la cauda son las partes con más cambio, mientras que la parte media es la menos variable. La evaluación realizada por medio de morfometría geométrica nos permitió reconocer que las familias evaluadas presentan, cada una, una forma característica de sulco y enfatizar qué parte de la estructura es la que cambia entre los integrantes del stock analizado. Finalmente, podemos establecer que el análisis de morfometría geométrica del sulco es útil para la diferenciación de las especies de un stock.

INTRODUCCIÓN

Para el estudio de la variación morfológica cuantitativamente se implementaron técnicas morfométricas lineales también conocidas como multivariadas o tradicionales de distancias, que tienen como objetivo caracterizar la magnitud (tamaño) de los objetos considerando la combinación de varias medidas (Adams *et al.* 2004, Marcus 1990, Rohlf 1990, Rohlf & Marcus 1993) dejando de lado la forma de los objetos que para otros autores es de suma importancia (Rohlf & Bookstein 1990). El uso de la morfometría basada en el análisis del cambio de forma de los objetos está dando paso a la morfometría geométrica, que ha ayudado en gran medida a la discriminación entre formas intra e inter poblaciones y ha contribuido en trabajos sobre la relación de la morfología con diversos aspectos biológicos como taxonómicos, ecológicos, alométricos, evolutivos, entre otros (Bookstein 1991, Dryden & Mardia 1998, Zelditch *et al.* 2004).

Uno de los grupos estudiados bajo diversos enfoques morfométricos, ya sea tradicionales o geométricos son los peces, que al contener una gran diversidad de especies y de formas, es posible caracterizar y diferencia entre los miembros de un stock (Cadrin 2000, Waldman 1999, Aguilar-Medrano & Calderón-Aguilera 2014, Bohorquez-Herrera *et al.* 2015, Ibáñez & O'Higgins 2011, Ibáñez *et al.* 2012, Loy & Slice 2010, Turan 1999). El uso de la morfometría geométrica como herramienta para evaluar la forma del cuerpo y/o escamas ha tenido gran impacto en el entendimiento del stock de una zona así como de la identificación de sus integrantes (Strauss & Bookstein 1982, Ibáñez *et al.* 2012, Mir *et al.* 2013). Sin embargo, estas estructuras pueden verse afectadas por cambios ecológicos, lo que algunos autores consideran una desventaja en la correcta identificación de los miembros de un stock, así como de la determinación de la edad de las especies.

Recientemente, diversos autores han mencionado la importancia de usar los otolitos de los peces puesto que son estructuras conservadas que pueden ayudar en la distinción de especies, así como para el reconocimiento de las edades de individuos (Lombarte & Leonart 1993, Aymes *et al.* 2016, Vignon 2012, Carvalho *et al.* 2016). Aunque muchos autores mencionan que los otolitos están más ligados a aspectos genéticos que influenciados por factores ecológicos, algunos estudios han revelado que ambos factores están relacionados con su forma (Mérigot *et al.* 2007, Vignon 2012,

Carvalho *et al.* 2016, Mahe *et al.* 2016, Vignon 2016). y por ello es que otros autores combinan los resultados obtenidos de la forma, incluyendo en ocasiones datos del tamaño, tanto del cuerpo como de los otolitos para estimar la biodiversidad de los ensambles de peces y sus edades, así como para relacionarlas con aspectos ecológicos (Tuset *et al.* 2016, Avigliano *et al.* 2017). Por lo anterior, en el presente trabajo se analizó el cambio de forma de otolitos de algunas familias peces para reconocer la diversidad de formas que se presentan en el sulco acústico.

PARTE EXPERIMENTAL

Procesamiento de datos:

Se obtuvieron fotografías de la vista de los sulcos acústico de los otolitos sagita de 102 ejemplares de peces de la costa de Puerto Ángel, Oaxaca. Las fotos se modificaron en el programa de manipulación de imágenes de GNU (GIMP; V. 2.8.22, Kimball & Mattis 2017), invirtiendo el color a cada una de ellas para resaltar dicha estructura y visualizar mejor su forma. También se cambió el formato de imagen de *.jpg a *.tiff, ya que éste último se considera un formato más estable que no pierde resolución en caso de posteriores modificaciones. Las fotos de los otolitos de cada espécimen se agruparon por familias para los analizarlos. Los ejemplares para los que se desconocía la especie debido a una mala determinación o a no se determinaron, se incluyeron como un grupo extra para saber a qué forma de sulco acústico se parecía más

Análisis morfométricos:

Las imágenes se compilaron en un archivo con el programa tpsUtil (V. 1.7; Rohlf 2016) y se procesaron en el programa tpsDig2 (V. 2.29; Rohlf 2017) donde, con ayuda de la herramienta "Draw Background Curve", se digitalizó en cada foto una curva considerando 60 puntos (semimarcas) que describe la forma del sulco acústico y se colocaron dos marcas indicando el inicio y final de cada curva (Fig. 1) lo que constituye una configuración para los análisis posteriores.

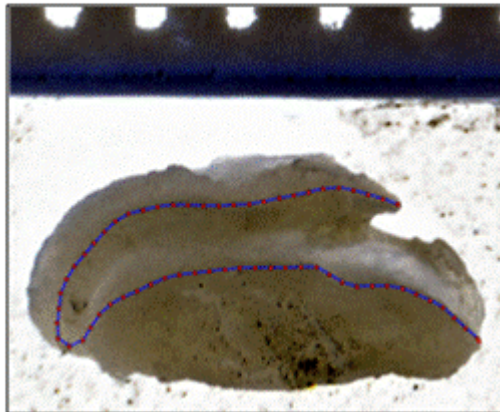


Figura 1. Foto de la cara del sulco, con colores invertidos. La regla de referencia se encuentra en la parte superior de la foto. Los puntos rojos indican las marcas y semimarcas sobre la curva que se encuentra en color azul.

Para ajustar el grado de deslizamiento de las semimarcas sobre la curva entre las formas, se generó un archivo en el programa tpsUtil (V. 1.7; Rohlf 2016) el cual se llevó al programa tpsRelw (V. 1.69; Rohlf 2016) para obtener el ajuste de las semimarcas sobre la curva usando la opción de distancias Procrustes considerando una iteración máxima de 40 (Fig. 2).

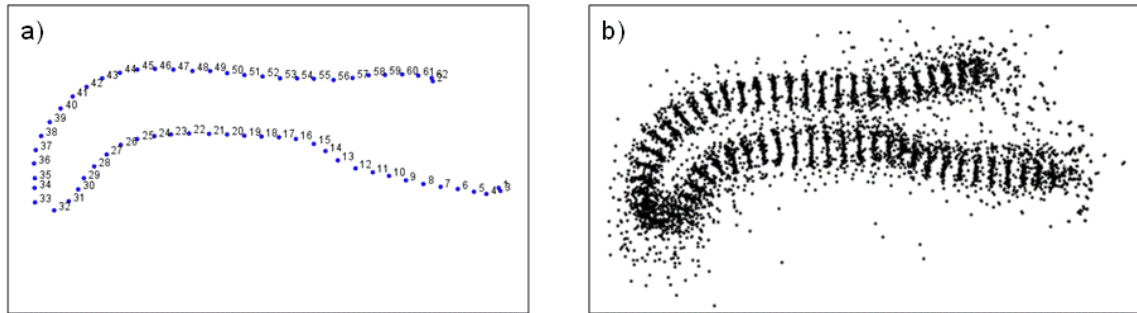


Figura 2. Representación de la forma promedio del sulco acústico (a) y el ajuste de semimarcas sobre la curva del sulco acústico considerando el protocolo de distancia Procrustes (b).

Una vez obtenido el ajuste de las semimarcas, se generó un archivo de salida con los tamaños del centroide de las deformaciones a partir de las distancias procrustes (Procrustes Distance; PD) desde el programa tpsRelw (V. 1.69; Rohlf 2016) que se utilizó en el programa MorphoJ (V. 1.06; Klingenberg 2011) para generar los análisis de componentes principales (ACP), de regresión y de variables canónicas (ACV) para hacer comparaciones entre las formas de los sulcos de las diferentes entidades registradas.

RESULTADOS

El análisis se realizó sobre las 20 familias que se registraron para el presente trabajo, las cuales comprenden 38 Géneros y 36 especies de peces bien determinadas. Los ejemplares sin determinar se agruparon como si fueran una familia diferente.

El ordenamiento obtenido con el análisis de componentes principales (ACP) fue realizado con todos los datos y se observó una gran superposición de los ejemplares por lo que se realizó un nuevo ACP sobre el promedio considerando como base las familias para observar su arreglo en el hiperespacio (Fig. 3). Los tres primeros componentes explican el 64.06% de la variación, siendo los componentes 1 y 2 los de mayor variación con muy poca diferencia entre ellos.

Por otro lado, el análisis de regresión de las PD generado con 10,000 permutaciones ($SC = 1.5$) sobre el tamaño del centroide mostró al igual que el ACP una gran dispersión de los datos así como un cambio muy elevado entre las formas con respecto a la forma promedio (Fig. 4). Si bien se observa una tendencia positiva en la nube de puntos, se muestra que dos individuos, uno de la familia Uranoscopidae y el otro de Lutjanidae, presentan tamaños de centroide grande pero no están cerca de la dispersión de los puntos. También se observa que los cambios más importantes se encuentran en la parte estrecha de la campana del sulco (collum) y en la zona más distal de los mismos (cauda), mientras que las demás regiones del sulco puntos presentan pocos cambios.

Finalmente, el AVC se realizó sobre la regresión debido a la gran dispersión de los datos y permitió obtener mejores valores de explicación ya que las tres primeras variables canónicas representan el 77.33% de la variación (Fig. 5). Al igual que en los análisis previos, podemos ver que los cambios más grandes se encuentran en zona del collum y la cauda, además de que se observa una segregación menor de los dos ejemplares de la familia Uranoscopidae y Lutjanidae que en la regresión se separan, mientras que se maximiza la dispersión de los integrantes de las familias Sciaenidae y Balistidae que desde el APC se ordenan y separan sobre el componente dos. También se observan las familias Scaridae, Ophichthidae y Paralichthyidae sobre la variable canónica 2.

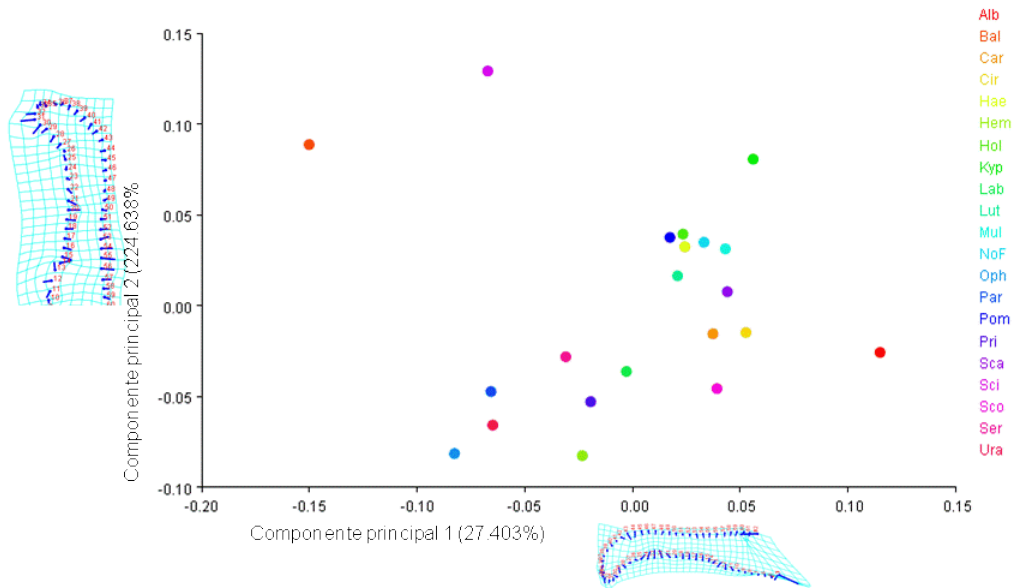


Figura 3. Análisis de Componentes principales. Los colores indican la posición de las familias comparando los dos ejes con mayor explicación. Sobre los ejes se observa la forma promedio de los sulcos y su deformación por cara eje. En paréntesis se tiene el porcentaje de variación que explica cada eje.

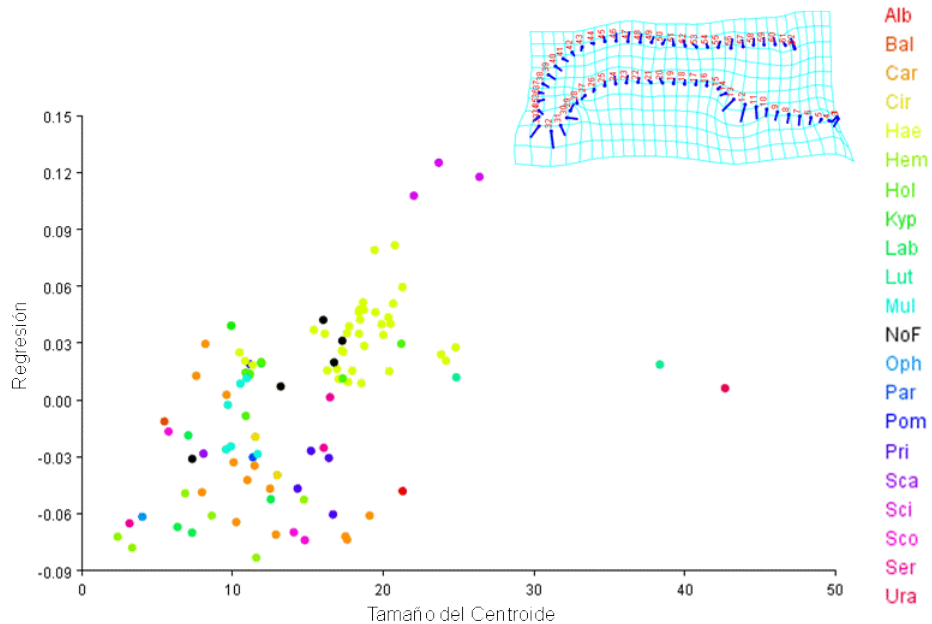


Figura 4. Análisis de Regresión lineal de los tamaños de centroide de las familias y su gradilla de deformación localizada en la parte superior derecha del gráfico.

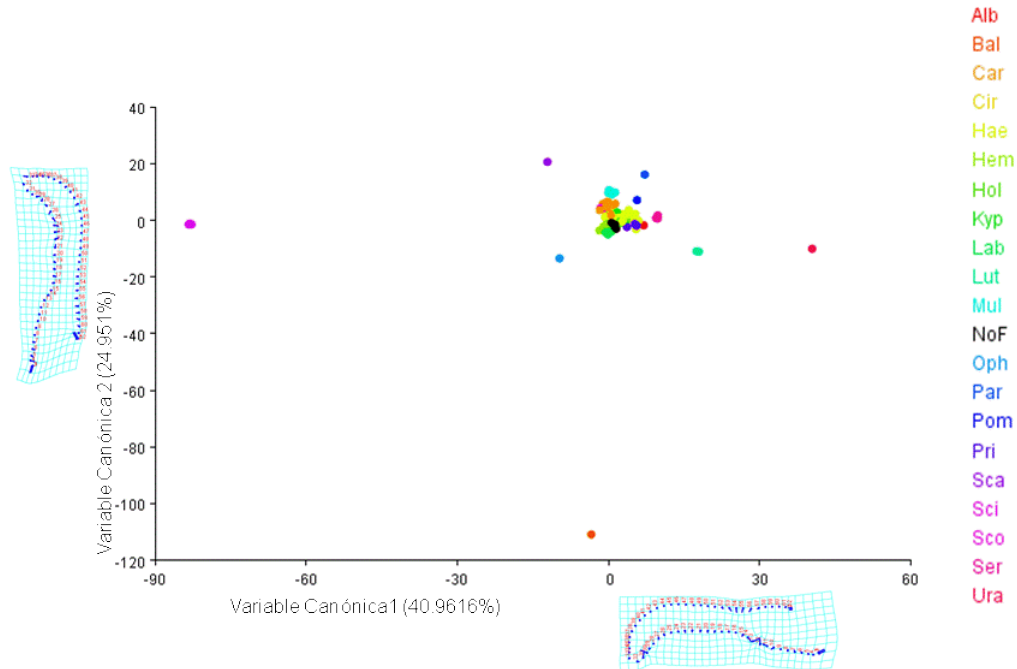


Figura 5. Análisis de Variables Canónicas. Los colores indican la posición de las familias comparando los dos ejes con mayor explicación. Sobre los ejes se observa la forma promedio de los sulcos y su deformación por cara eje. En paréntesis se tiene el porcentaje de variación que explica cada eje.

CONCLUSIONES

Muchos estudios en otolitos se han centrado en la caracterización principalmente cualitativa de los mismos para resolver diversas preguntas como la influencia de la alimentación en su crecimiento (Gagliano et al. 2004) así como el análisis de los patrones de edad y crecimiento (Amezcueta et al. 2005, Granados Flores et al. 2009, Tariche et al. 2014), en paleontología para reconocer especies de una formación (Nolf & Aguilera 1998, Kern et al. 2012), en la construcción de catálogos y guías de identificación (Shwarzhan 1999, Skeljo & Ferri 2012, Bostanci et al. 2015, Ahmed & Moselhy 2016, Salimi et al. 2016) y pocos son aquellos que extraen y analizan la forma de los otolitos con herramientas morfométricas (Monteiro et al. 2005, Tuset et al. 2016, Mapp et al. 2017).

Monteiro et al. (2005) analizaron el contorno y pocas zonas del sulco acústico, y mencionan que los patrones alométricos son similares en todas las especies y que las diferencias interespecíficas fueron mayores al comparar la variación dentro de las especies aunque fueran integrantes del mismo género. Por otro lado, Tuset y colaboradores (2016) incluyen tanto el análisis del contorno de los otolitos y de sus sulcos, destacando la gran relevancia que sólo la estructura del sulco presenta como descriptor de especies dentro de un ensamblaje de peces siendo las zonas del ostium y la cauda las que presentan mayor cambio, como se observa en nuestros resultados. En ambos trabajos se analiza el contorno y alguna parte del sulco acústico, pero se siguen haciendo comparaciones entre ambas estructuras si se consideran independientes. Tuset et al. (2016) hace mención de la importancia del sulco y propone que es posible que factores morfofuncionales de cada grupo de especies son los que modelan su forma. En el presente trabajo se observa que algunas familias se dispersan más que otras, como se observa en el AVC y la regresión, y esto es debido a que dichas familias (Sciaenidae, Balistidae, Scaridae, Ophichthidae y Paralichthyidae) presentan los patrones de cambio más grandes en comparación con el resto de los ejemplares. Sin embargo, consideramos que los resultados obtenidos se complementarían incluyendo el análisis de la forma del contorno de los otolitos como variable independiente por lo que se pretende analizar la relación de los sulcos acústicos con sus contornos y reconocer si existen patrones que permitan reconocer a los miembros de un ensamblaje de peces. Finalmente, consideramos que el presente trabajo es importante puesto que en la mayoría de los trabajos sólo se estudia el contorno o éste junto con el sulco y difícilmente

hacen un análisis de ambas formas por separado, sobretodo porque cualitativamente el sulco acústico aporta información relevante para la determinación de especies y el poder analizar su forma, hace menos subjetivo el uso de esta estructura.

BIBLIOGRAFÍA

1. D. C. Adams, F. J., Rohlf & D. E. Slice, "Geometric morphometrics: ten years of progress following the 'revolution'". *Ital. J. Zool.*, 71, 2004, pp. 5-16.
2. R. Aguilar-Medrano, & L. E. Calderón-Aguilera, "Redundancy and diversity of functional reef fish groups of the Mexican Eastern Pacific. *Mar. Ecol.*, Vol. 37, 2014, pp. 119-133.
3. F. Amezcua, I. Martínez-Tovar, Y. Green-Ruiz, F. Amezcua-Linares, "Use of otoliths to determine age and growth of a tropical flatfish *Cyclopsetta querna* (Paralichthyidae) from the southeast coast of the Gulf of California, Mexico", *Ichthyol. Res.*, Vol. 53, 1, 2005, pp. 70-74.
4. E. Avigliano, A. Domanico, S. Sánchez & A. V. Volpedo, "Otolith elemental fingerprint and scale and otolith morphometry in *Prochilodus lineatus* provide identification of natal nurseries. *Fish. Res.*, Vol. 186, 2017, pp. 1-10.
5. J. C. Aymes, M. Vignon, E. Beall, F. Guéraud & P. Gaudin, "Age validation of the Kerguelen Islands brown trout, *Salmo trutta* L., and selection of the otolith optimal zone for investigating chronological data series 2, *Fish. Res.*, 176, 2016, pp. 22-29.
6. J. Bohorquez-Herrera, V. H. Cruz-Escalona, D. C. Adams & M. S. Peterson, "Feeding ecomorphology of seven demersal marine fish species in the Mexican Pacific Ocean", *Environ Biol Fish*, Vol. 98, 2015, pp. 1459-1473.
7. F. L. Bookstein, "Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology" (Cambridge University Press, 1991), 435 págs.
8. D. Bostanci, N. Polat, G. Kurucu, S. Yedier, S. Konaş & M. Darçin, "Using otolith shape and morphometry to identify four *Alburnus* species (*A. chalcoides*, *A. escherichii*, *A. mossulensis* and *A. tarichi*) in Turkish inland waters", *J. Appl. Ichthyol.*, Vol. 31, 6, 2015, pp. 1013-1022.
9. S. X. Cadrin, "Advances in morphometric identification of fishery stocks", *Rev. Fish. Biol. Fisher.*, Vol. 10, 1, 2000, pp. 91-112.
10. B. M. Carvalho, A. M. Vaz-dos-Santos, H. L. Pach & A. V. Volpedo, "Ontogenetic development of the sagittal otolith of the anchovy, *Anchoa tricolor*, in a subtropical estuary. *Scient. Mar.*, Vol. 79, 4, 2015, pp. 1-15.
11. I. L. Dryden & K. V. Mardia, "Statistical Shape Analysis", (Wiley, Chichester, 1998) Cap. 7.
12. M. Gagliano & M. I. McCormick, "Feeding history influences otolith shape in tropical fish". *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, Vol. 278, 2004, pp. 291-296, pp. 1.15.
13. GNU Image Manipulation Program (GIMP; version 2.8.22; The GIMP Team. GIMP version 2.8.22. Boston, MA: Free Software Foundation Inc. [<http://www.gimp.org/>], 2017.
14. K. Granados Flores, M. Gallardo-Caballo, E. Espino-Barr & E.G. Cabral-Solis, "Age determination of *Microlepidotus brevipinnis* (Steindachner, 1869) (Pisces: Haemulidae) in the Coast of Jalisco, Mexico, by reading otoliths and scales", *Int. J. Zool. Res.*, Vol. 6, 1, 2009, pp. 1-12.
15. A. L. Ibañez, E. Espino-Barr & M. Gallardo-Caballero, "Population connectivity among geographic variants within the Lutjanidae (Pisces) of the Mexican Pacific coast through fish scale shape recognition", *Scient. Mar.*, Vol.76, 4, 2012, pp. 667-675.
16. A. L. Ibañez & P. O'Higgins, "Identifying fish scales: The influence of allometry on scale shape and classification". *Fish. Res.*, Vol. 109, 2011, pp. 56-60.
17. Z. Kern, M. Kázmér, M. Bosnakoff, T. Váczi, B. Bajnóczi & L. Katona, "Incremental growth and mineralogy of Pannonian (Late Miocene) sciaenid otoliths: paleoecological implications", *Geol. Carpath.*, Vol. 63, 2, 2012, pp. 175-178.
18. S. Kimball & P. Mattis, "Gimp 2.8.22," GNU Image Manipulating Program, The GIMP Development Team [<https://www.gimp.org/>] (2017).
19. C. P. Klingenberg, "MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics", *Mol. Ecol. Resour.*, Vol. 11, 2011, pp. 353-357.
20. A. Lombarte & J. Leonart, "Otolith size changes related with body growth, habitat depth and temperature", *Environ. Biol. Fish.*, Vol.37, 1997, pp. 297-306.

21. A. Loy & D. E. Slice. "Image data banks and geometric morphometrics", in: *Tools for Identifying Biodiversity: Progress and Problems*. (EUT Edizioni Università di Trieste, 2010), pp. 243-248.
22. Mahe, K., C. Oudard, T. Mille, J. Keating, P. Gonçalves, L. Worsoe Clausen, G. Petursdottir, H. Rasmussen, E. Meland, E. Mullins, J. K. Pinnegar, Å. Hoines & V. M. Trenkel. 2016. Identifying blue whiting (*Micromesistius poutassou*) stock structure in the Northeast Atlantic by otolith shape analysis. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 73:1363-1371.
23. J. Mapp, E. Hunter, J. Van Der Kooij, S. Songer & M. Fisher. "Otolith shape and size: The importance of age when determining indices for fish-stock separation". 2017
24. L. Marcus, "Traditional Morphometrics", in *Proc. Mich Morph. Workshop*. Publicación Especial No. 2, (The University of Michigan Museum of Zoology, Ann Arbor, Michigan, 1990), pp. 77-122.
25. B. Mérigot, Y. Letourneur & R. Lecomte-Finiger, "Characterization of local populations of the common sole *Solea solea* (Pisces, Soleidae) in the NW Mediterranean through otolith morphometrics and shape analysis", *Mar. Biol.*, Vol. 151, 2007, pp. 997-1008.
26. J. I. Mir, U. K. Sarkar., A. K. Dwivedi, O. P. Gusain & J. K. Jena. "Stock structure analysis of *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) across the Ganga basin (India) using a truss network system", *J. Appl. Ichthyol.*, Vol. 29, 2013, pp. 1097-1103.
27. L. R. Monteiro, A. P. M. Di Benedetto, L. H. Guillermo & L. A. Rivera, "Allometric changes and shape differentiation of sagitta otoliths in sciaenid fishes", *Fish. Res.*, Vol. 74, 1-3, 2005, pp. 288-299.
28. D. Nolf & O. Aguilera, "Fish otoliths from the Cantaure Formation (Early Miocene of Venezuela)", *Bull. Inst. Royal Sci. Nat. Belg.*, 1998, pp. 237-262.
29. A. M. S. Omar & A. A. A. Moselhy, "Comparative anatomical studies on the otoliths (Ear stones) of some fishes", *Int. J. Fish. & Aq. Stud.*, Vol. 4, 6, 2016, pp.506-511.
30. F. J. Rohlf & F. L. Bookstein, "Multivariate Methods", in *Proc. Mich Morph. Workshop*. Publicación Especial No. 2, (The University of Michigan Museum of Zoology, Ann Arbor, Michigan, 1990), pp. 75-76.
31. F. J. Rohlf, "Morphometrics", *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst*, Vol. 21, 1990, pp.299-316.
32. F. J. Rohlf, "Morphometrics software (data acquisition, generalized Procrustes analysis, Multivariate regression of shape onto independent variables, Relative warps analysis Thin-Plate spline, utilities)", (Department of Ecology and Evolution. SUNY at Stony Brook, New York, 2008).
33. F. J. Rohlf, tpsRelw, Relative Warps, version 1.69. (Department of Ecology and Evolution. SUNY at Stony Brook, New York, 2014).
34. F. J. Rohlf, tpsUtil, file utility program, version 1.60. (Department of Ecology and Evolution. SUNY at Stony Brook, New York, 2016).
35. F. J. Rohlf, tpsDig2, version 2.29. (Department of Ecology and Evolution. SUNY at Stony Brook, New York, 2017).
36. F. J. Rohlf & L. F. Marcus, "A revolution in morphometrics", *Tren.Ecol. Evol*, Vol. 8, 1993, pp. 129-132.
37. N. Salimi, K. H. Loh, S. Kaur Dhillon & V. C. Chong. "Fully-automated identification of fish species based on otolith contour: using short-time Fourier transform and discriminant analysis (STFT-DA)". *PeerJ*. doi:10.7717/peerj.1664, 2016.
38. F. Škeljo & J. Ferri. "The use of otolith shape and morphometry for identification and size-estimation of five wrasse species in predator-prey studies". *J. Appl. Ichthyol*. Vol. 28, 4, 2012, pp. 524-530.
39. R. E. Strauss & F. L. Bookstein, "The TRUSS: body form reconstructions in morphometrics". *Syst. Zool.*, Vol. 31, 2, 1982, pp. 113-125.
39. W. Shwarzahans. "Piscium Catalogus: A comparative morphological treatise of recent and fossil otoliths of the order Pleuronectiformes, Volumen 2". Verlag Dr. Friedrich Pfeil, München, 1999, 392 págs.
40. O. Tariche, J. G. Pajuelo, J. M. Lorenzo, A. Luque & J. A. Gonzalez. "Age estimation and growth pattern of the grouper *Cephalopholis taeniops* (Epinephelidae) off the Cape Verde Archipelago, north-west Africa". Vol. 95, 3, 2014, pp. 599-609.

41. C. Turna, "A Note on The Examination of Morphometric Differentiation Among Fish Populations: The Truss System". *Turk. J. Zool.*, Vol. 23, 1999, pp. 259-263.
42. V. M. Tuset, M. Farré, J. L. Otero-Ferrer, A. Vilar, B. Morales Nin & A. Lombarte, "Testing otolith morphology for measuring marine fish biodiversity", *Mar. Freshw. Res.*, Vol. 67, 2016, pp. 1037-1048.
43. Vignon, M. 2012. Ontogenetic trajectories of otolith shape during shift in habitat use: Interaction between otolith and environment. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 420-421:26-32.
44. M. Vignon, "Investigating morphospace occupation in multi-scale ecological and evolutionary data using regression tree: case studies and perspectives", *Evol. Biol.*, Vol. 44, 1, 2016, pp. 120-134.
45. J. R. Waldman, "The importance of comparative studies in stock analysis", *Fish. Res.*, 43, 1999, pp. 237-246.
46. M. L. Zelditch, D. L. Swiderski, H. D. Sheets & W. L. Fink, "Geometric Morphometrics for Biologists, a primer" (Elsevier Academic Press, New York and London, 2004), 437 págs.

FACTORES DE PATOGENICIDAD EN BACTERIAS AISLADAS, EN DOS SITIOS DE MUESTREO EN LA ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO

Erick Uriel Quezada Cabrera¹, María Teresa Núñez Cardona¹, Arturo Martínez Santiago¹ Raúl Venancio Díaz Godoy²

¹Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco A, ²Instituto Nacional de Investigación Nucleares

RESUMEN

La calidad del aire en las ciudades depende, entre otras, de las actividades humanas (Ej. industriales, agropecuarias, las relacionadas con el sector salud) e indudablemente la forma de vida de las personas también influye en esta. El objetivo del presente trabajo de investigación fue aislar bacterias heterótrofas del aire en dos puntos de la Red de Monitoreo Ambiental del Valle de Toluca y determinar algunos factores de patogenicidad en estas. En junio del 2017, mediante la técnica de impactación directa, se colectaron las muestras de bacterias, se dejaron abiertas cajas Petri con agar nutritivo, durante 30 minutos (12 horas) en las estaciones Zinacantepec y Ceboruco. Se obtuvieron cultivos bacterianos puros y se observó su capacidad de producir ADNasa, gelatinasa, lipasa, amilasa, ureasa y hemólisis. De Zinacantepec (28 cultivos), el 75% fueron bacilos Gram positivos y 25% cocos, todos produjeron ADNasa y amilasa; 64% gelatinasa, 46% lipasa 46%, 18% ureasa y 21% fueron hemolíticos. El índice medio de producción de enzimas (I.M.E.) por lo cultivos bacterianos, en este punto fue de 58%. En Ceboruco, el 55% fueron bacilos y el 45% cocos, todos Gram positivos y productores de amilasa; el 91% a la ADNasa y hémolisis; el 75% lipasa y 45% ureasa; el IME aquí fue de. Algunos autores indican que los bacilos Gram positivos esporulados son los más abundantes en el aire debido a que son capaces de resistir las condiciones ambientales extremas. Por otro lado, la capacidad de producir ADNasa, gelatinasa, lipasa y actividad hemolítica, facilita infectar a las células. En ambos puntos de muestreo predominaron los bacilos Gram positivos pero fue evidente la diferencia en cuanto a su capacidad de enzimas extracelulares, de acuerdo con el I.M.E calculado, que fue mayor en Ceboruco, al igual que el número de cultivos hemolíticos detectados este punto.

INTRODUCCIÓN

Si bien las bacterias son de los organismos más abundantes en el planeta, su composición y distribución en el aire dependen, entre otros factores, de las condiciones físicas y químicas que predominan en el ambiente, especialmente en el Valle de Toluca las actividades industriales, sociales, alta movilidad vial entre otros, aportan cantidades altas de partículas suspendidas al aire, entre las que se encuentran bacterias a las que están expuestas las poblaciones humanas y que conlleva alterar negativamente su salud por contaminación local (PROAIRE, 2012). Las bacterias cuentan con formas, estructuras, además de mecanismos fisiológicos y metabólicos que les permiten sobrevivir en el aire y otros ambientes como por ejemplo la microbiota en humanos, del suelo, agua y plantas (Méndez-Puentes *et al*, 2015). Tanto las actividades antropogénicas y fuentes naturales, emiten material particulado, que contiene microorganismos que son transportados y camuflajeados a través del aire, y a los cuales están expuestos los organismos vivos (Rosas *et al*, 2004). Estudios previos han reportado que en el aire las bacterias Gram positivas (Ej. *Bacillus* y *Staphylococcus*) debido a que son resistentes a diferentes sustancias químicas (Ej. antibióticos, solventes orgánicos, etc.), se adecuan a una amplia diversidad de ambientes, además de contar con factores de patogenicidad, mismos que facilitan la entrada al huésped causándole enfermedades como por ejemplo: bronquitis, pulmonías, asma, entre otras, ya que afectan principalmente las vías respiratorias, además de causar infecciones cutáneas (Méndez-Puentes *et al*, 2015 y Borrego *et al*, 2011). El objetivo de este trabajo de investigación fue aislar bacterias heterótrofas del aire en dos puntos de la Red de Monitoreo Ambiental del Valle de Toluca y determinar algunos factores de patogenicidad en estas.

TEORÍA

Las paredes celulares de las bacterias Gram positivas está compuesta por peptidoglucano que las hace más resistentes a desecación y condiciones ambientales extremas, diferencialmente, bacterias Gram negativas contienen una capa con recubrimiento de lipopolisacáridos en la pared celular que

las hace menos resistentes su respuesta a las condiciones ambientales es menos favorable a condiciones como las que se presentan en la atmósfera, tales como contaminantes atmosféricos y la luz ultravioleta que pueden inactivarlas (Tang, 2009).

Para sobrevivir en el ambiente, las bacterias cuentan con una serie de propiedades que han adquirido a través de la evolución, estas no sólo les permite proliferar en el ambiente, sino también invadir y desarrollarse en otros organismos vivos. La producción de enzimas extracelulares son ejemplo de ello, razón por lo que se les considera como factores de patogenicidad en las bacterias (Castro-Escarpulli *et al*, 2002). La gelatinasa, es una proteasa que interviene y degrada a los aminoácidos que tienen la capacidad de gelificar la hemoglobina, caseína y gelatina, con la hemólisis se lisan los glóbulos rojos (Layton *et al*, 2011) y la ADNasa hidroliza al ADN (Zandejas-Manzo *et al*, 2014) en tanto que la función de la lipasa es degradar los lípidos, compuestos que son insolubles en agua (Aceves-Diez y Castañeda-Sandoval 2012); por último, la ureasa, es catalizadora de la hidrólisis de la urea que la descompone para producir amonio y ácido carbónico, con el cual se neutraliza el pH ácido de las glándulas gástricas en los humanos, lo cual se asocia con la colonización de las bacterias que producen esta enzima, en el epitelio gástrico. *Helicobacter Pylori* es un ejemplo de bacterias productoras de ureasa que causa gastritis y cáncer gástricos (Rivas-Traverso y Hernández, 2000).

PARTE EXPERIMENTAL

Las muestras fueron colectadas en junio del 2017 (a las 12 horas), para ello se utilizó la técnica por impactación directa en cajas de Petri conteniendo agar nutritivo (por duplicado), las cuales se dejaron abiertas durante 30 minutos (García-Mena *et al*, 2016) en los sitios Zinacantepec y Ceboruco pertenecientes a la Red de Monitoreo de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (figura 1), las muestras fueron transportadas al laboratorio de Ecología Microbiana de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco donde fueron incubadas durante 24 horas a 28°C.

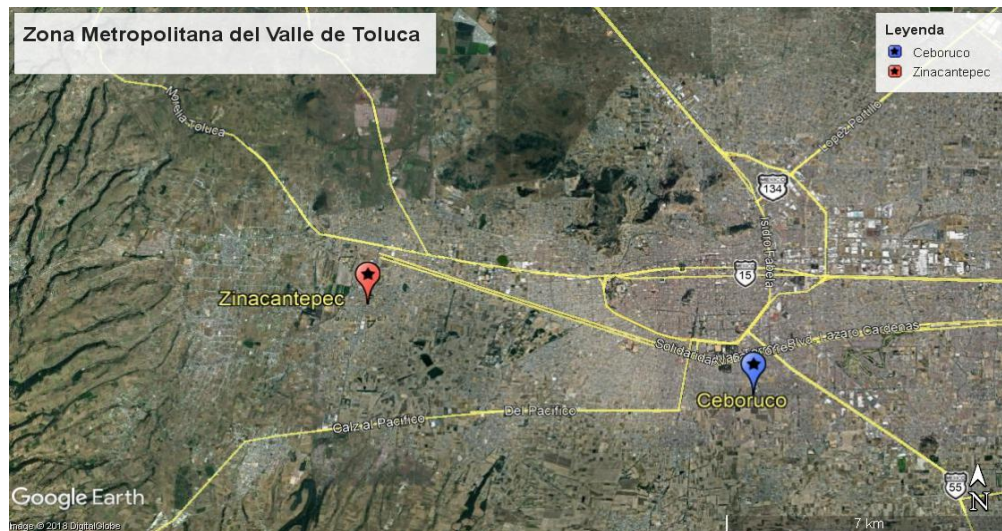


Figura 1.- Ubicación de la estación Zinacantepec y Ceboruco de la RAMA-ZMTV (Google Earth, 2018).

A partir del crecimiento de las colonias bacterianas en agar nutritivo, se hicieron aislamientos al azar y se conservaron en viales con agar nutritivo para posteriormente aplicar la técnica de siembra y resiembra hasta obtener cultivos puros lo cual fue verificado aplicando la tinción de Gram, se llevó a cabo el registro del color, la forma y el tamaño de las colonias y su respuesta a dicha tinción (Simón-Castillo, 2012).

Para detectar algunos factores de patogenicidad en los cultivos puros estos se hicieron crecer en medios de cultivo específicos para determinar la presencia de: amilasa, gelatinasa, lipasa, ADNasa, hemólisis y ureasa, de acuerdo con lo propuesto por Simón-Castillo (2012). Los cultivos fueron

incubados durante 48 horas a 28°C. Finalmente se calculó el Índice Medio de Producción de Enzimas (IME) el cual se calculó utilizando la siguiente formula: $(\sum Pe/Ne)$ donde Pe= Porcentajes positivos de las enzimas y Ne= Número total de enzimas ensayadas (Carballo-Cruz, 1985).

RESULTADOS

Se obtuvieron un total de 28 cultivos puros de Zinacantepec y 11 de Ceboruco, las características morfológicas se presentan en la figura 2. Méndez-Puentes *et al*, (2015), en un ambiente exterior de la Sierra de Neiva (Colombia), encontró una mayor número de bacilos esporulados Gram positivos, y explica que su permanencia en este ambiente se debe a que estos cuentan con una pared celular más resistente.

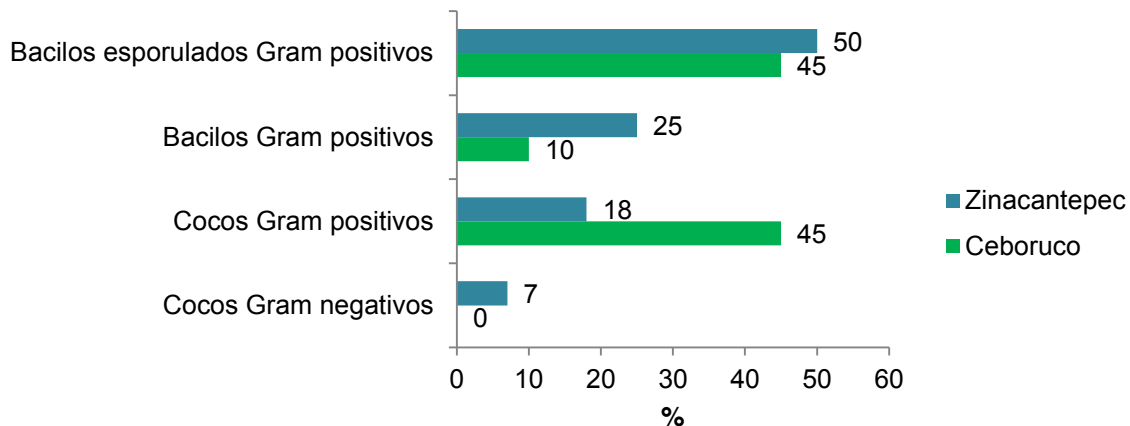


Figura 2.- Características morfológicas y respuesta a la tinción de Gram por los cultivos bacterianos aislados de Zinacantepec (Azul) y Ceboruco (Verde)

En la figura 3 se presenta el número de cultivos (%) productores de las enzimas ensayadas, así como el I.M.E. de los dos sitios de muestreo.

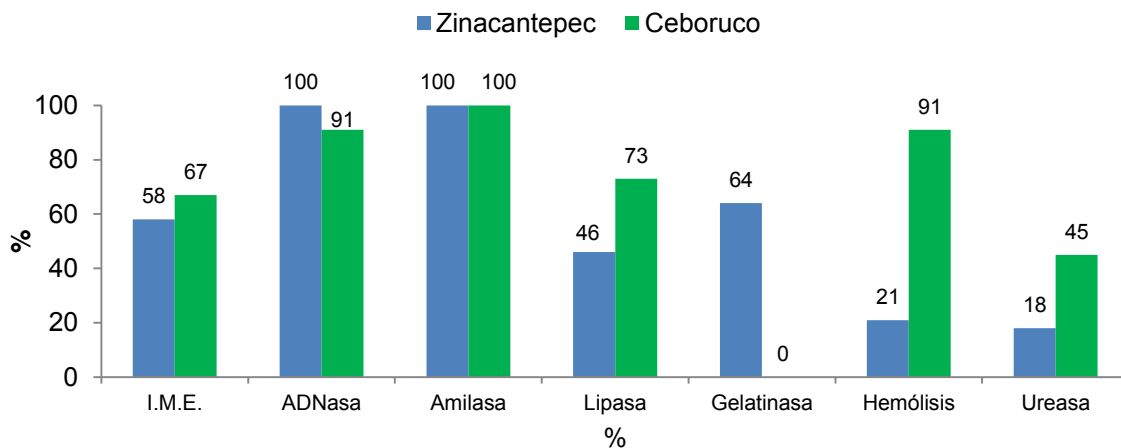


Figura 3.- Número de cultivos bacterianos (%) productores de enzimas extracelulares e I.M.E.

Las tablas 1 y 2 contienen los cultivos bacterianos productores de enzimas extracelulares consideradas indicativas de patogenicidad de los dos puntos de muestreo. Enzimas como ADNasa y Hemólisis se caracterizan por ser comunes en especies generalmente patógenas, ya que la primera tiene la actividad de la desoxirribonucleasa que hidroliza el ADN y la segunda la lisis de los globulos

rojos, ambos factores son comunes en *Staphylococcus aureus* (Zandejas-Manzo *et al*, 2014; Brock *et al*, 2009).

Bacillus subtilis, un bacilo Gram positivo, se caracteriza por ser amilasa negativo, gelatinasa positiva, y se adapta a diversos ambientes, ya que tiene la característica de formar endosporas, que lo hacen resistente a la falta de nutrientes, es habitual en el aire y es capaz de migrar a grandes distancias hasta encontrar condiciones óptimas para su crecimiento, también se le ha detectado en agua dulce y salobre, y, además del aire es crece comúnmente (Layton *et al*, 2011).

Algunas especies de *Staphylococcus*, *Bacillus* y *Pseudomonas* (bacilos Gram negativos) se caracterizan por producir lipasas por lo que se les puede encontrar cerca de industrias en las que se procesan aceites como las del aceite vegetal, derivados de lácteos, suelos contaminados con desechos de aceites (Aceves-Diez *et al*, 2012) y de la industria del petróleo.

Tabla 1.- Capacidad para producir enzimas extracelulares por los cultivos bacterianos puros de Zinacantepec, bacterias Gram positivas (Azul) y Gram negativas (rojo); forma celular: B bacilos y C=cocos.

Cepas	ADNasa	Amilasa	Lipasa	Gelatinasa	Hemólisis	Ureasa
C-2ZT5a						
B-2ZT10c						
C-2ZT4a						
B-1ZT1b						
C-1ZT5c1c						
B-1ZT4b						
B-2ZT9a						
B-1ZT4a						
B-2ZT9b						
B-2ZT8b3						
C-1ZT5c4c						
B-1ZT2a3c						
C-1ZT5c1b						
B-1ZT3b						
B-1ZT1a						
B-1ZT3c						
C-1ZT5c4b						
B-1ZT2a3b						
B-2ZT10a2						
B-1ZT8a1						
B-1ZT2c2						
B-1ZT6b2						
B-2ZT2a4						
B-2ZT8a2						
B-2ZT2c1						
C-1ZT5c4a						
B-2ZT2a2						
B-1ZT2c3						

 Positivos
 Negativos

Tabla 2.- Capacidad para producir enzimas extracelulares, en cultivos puros de Ceboruco, Gram positivos (Azul) (B= bacilos y C=cocos).

Cepas	ADNasa	Amilasa	Lipasa	Gelatinasa	Hemólisis	Ureasa
C-1CB1a2						
B-1CB1b1						
C-1CB1b3						
C-2CB1a1						
C-2CB1a2						
B-2CB1b1						
B-2CB1c1						
B-2CB2b2						
B-2CB3a2						
B-2CB3a3						
C-2CB4a2						

	Positivos
	Negativos

CONCLUSIONES

Si bien las bacterias más abundantes que habitan en ambos puntos de muestreo fueron bacilos Gram positivos, sí se observan diferencias en cuanto a su capacidad de producir enzimas extracelulares de acuerdo con el I.M.E. que fue mayor en Ceboruco al igual que el número de cultivos hemolíticos, además de que se encontraron algunos cultivos con factores de patogenicidad como los presentes en los géneros *Staphylococcus* y de *Bacillus* sp.

BIBLIOGRAFÍA

1. A.E. Aceves-Diez, L.M. Castañeda-Sandoval, Producción Biotecnológica De Lipasas Microbianas, una Alternativa Sostenible Para La Utilización De Residuos Agroindustriales Vitae, Revista de la facultad de química farmacéutica, vol. 19, 3, 2012, pp. 244-247.
2. C.A. Méndez-Puentes, J.G. Camacho-Suárez, y S. Echeverry-Hernández, "Identification of bacteria and fungi in the air of Neiva, Colombia", Rev de Salud Pública., Vol.17,2, 2015, pp. 728-737.
3. C.Layton, E. Maldonado, L. Monroy, C.L. Constanza, S.L. Consuelo, "Bacillus spp.; perspectiva de su efecto biocontrolador mediante antibiosis en cultivos afectados por fitopatógenos", NOVA - Publicación Científica en Ciencias Biomedicas, Vol. 9, 15, 211, pp. 113-214.
4. E.P. Canales, L.E. Chavéz-Hidalgo, I.A. Zavaleta, "Caracterización de bacterias halófilas productoras de amilasas aisladas de las Salinas de San Blas en Junín", Rev. Colomb. Biotecnol. Vol. 16,2, 2014, pp. 50-157.
5. F. Rivas-Traverso y F. Hernández, "Helicobacter pylori, factores de virulencia, patología y diagnóstico", Rev Biomed, vol 11, 3, 2011, pp. 187-205.
6. G. Castro-Escarpulli, M.G. Aguilera-Arreola, S. Giono-Cerezo, C.H. Hernández-Rodríguez, M. Rodríguez-Chacón, L. Soler-Falgás, G. Aparicio-Ozores, M.G. Figueras-Salvat, "El género Aeromonas, ¿Un patógeno importante en México?", Enfermedades Infecciosas y Microbiología, Vol. 22, 4, 2002, pp.206-216.

7. G.S. Zandejas-Manzo, H. Avalos-Flores, M.Y. Soto-Padilla, "Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación", *Rev Biomed*, Vol. 25, 3, 2014, pp. 129-143.
8. I. Rosas, E. Salinas, L. Martínez, C. Eslava, A. Cravioto. "Bacterias en la atmósfera. In: Rosas I, Cravioto A, Ezcurra E, editors. *Microbiología Ambiental*", México (DF): INE-SEMARNAT, 2005, pp. 15-45. .
9. I. Simón-Castillo, "Caracterización de bacterias heterótrofas de bioaerosoles colectadas en tres puntos del Distrito Federal", *Informe de Servicio Social. Universidad Autónoma Metropolitana*, 2011, 45 p.
10. J. García-Mena, S. Murugesan, A. A. Pérez-Muñoz, M. García-Espitia, O. Maya, M. Jacinto-Montiel, G. Monsalvo-Ponce, A. Piña-Escobedo, L. Domínguez-Malfavón, M. Gómez-Ramírez, E. CervantesGonzález, M. T. Núñez-Cardona, "Airborne Bacterial Diversity from the Low Atmosphere of Greater Mexico City", *Microb. Ecol.*, Vol. 72, 1, 2016, pp. 70-84.
11. PROAIRE, "Programa para Mejorar la Calidad del Aire del Valle de Toluca" (2012-2017). México (EM): SEDAGRO. 2012, 105 p.
12. R. Carballo-Cruz, "Caracterización de bacterias heterótrofas en los aportes de la Laguna de Términos a la Sonda de Campeche", *Tesis de Licenciatura en Químico Fármaco Biólogo*, México, Facultad de Química, UNAM, p 148.
13. S. Borrego, I. Perdomo, J. De La Paz , S.G. Gómez de Saravia y P.S. Guiamet, "Relevamiento microbiológico del aire y de materiales almacenados en el Archivo Histórico del Museo de La Plata, Argentina y el Archivo Nacional de la República de Cuba", *Rev. del Museo de La Plata Sección Botánica.*, Vol.18, 2011, pp. 1-18.
14. W.J. Tang, "The effect of environmental parameters on the survival of airborne infectious agents", *J. R. Soc. Interface*, 2009, 11 p.

GENERACIÓN DE FASES CO-AMORFAS DE INGREDIENTES FARMACÉUTICOS ACTIVOS HIPOGLUCEMIANTES CON EL AMINOÁCIDO L-ARGININA PARA EL INCREMENTO DE LA SOLUBILIDAD.

Salma O. Aragón Aburto^{1,2}, Jorge G. Domínguez Chávez², Karina Mondragón Vásquez², Gerardo Valerio Alfaro¹ y Oscar García Barradas²

¹Instituto Tecnológico de Veracruz, ²Universidad Veracruzana

RESUMEN

La diabetes *mellitus* (DM) en una enfermedad crónica que se presenta como diabetes *mellitus* tipo 1 o diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2). El tratamiento para la DM2 incluye ingredientes farmacéuticos activos (IFAs) hipoglucemiantes, pero desafortunadamente algunos disponibles comercialmente presentan baja permeabilidad, baja estabilidad y baja solubilidad y velocidad de disolución en agua, lo que impacta negativamente en su eficacia terapéutica. Al respecto, una estrategia interesante para mejorar estas propiedades es modificar la estructura del estado sólido, por ejemplo, formando polimorfos, sales, co-cristales, amorfos y co-amorfos que han demostrado mejorar la disolución, la solubilidad y la biodisponibilidad oral de IFAs poco solubles en agua. En este estudio, se generaron nuevas fases sólidas (NFS) co-amorfas de los IFAs hipoglucemiantes repaglinida (REP), nateglinida (NAT), y glibenclamida (GLB) en combinación con el aminoácido L-Arginina (L-ARG) para mejorar su solubilidad, mediante la técnica de evaporación rápida de una disolución en metanol del IFA hipoglucemiante con la L-ARG en una relación 1:1. Las fases obtenidas se caracterizaron estructuralmente mediante difracción de rayos X de polvos y espectroscopía de infrarrojo así como térmicamente mediante calorimetría de barrido diferencial y análisis termogravimétrico. Finalmente, se realizaron estudios de solubilidad de acuerdo a la Farmacopea Mexicana y de Estados Unidos de América.

INTRODUCCIÓN

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), 422 millones de personas en el mundo padecen DM, en donde cerca de un 90% presenta DM2. En la mayoría de los casos (87%), la dieta y ejercicio no son suficientes para tratar esta afección, por lo que la administración de medicamentos hipoglucemiantes es necesaria. Sin embargo, alrededor de 40% de los IFAs disponibles en el mercado y cerca de un 90% de los fármacos en líneas de desarrollo, son pobremente solubles en medios acuosos (Kalepu, 2015) y además algunos presentan baja permeabilidad, baja estabilidad y velocidad de disolución.

Para mejorar estas propiedades, una estrategia interesante es la modificación de la estructura del estado sólido mediante la generación de nuevas fases sólidas (NFS), por ejemplo, formando polimorfos, sales, co-cristales, amorfos y co-amorfos que han demostrado mejorar la disolución, la solubilidad y la biodisponibilidad oral de IFAs poco solubles. Esta estrategia consiste en el uso de moléculas de bajo peso molecular, generalmente reconocidas como seguras (GRAS) por la FDA, que poseen grupos funcionales análogos o complementarios a los grupos funcionales de los fármacos, con la finalidad de que puedan generar una interacción intermolecular, formando una sola fase homogénea, es decir una supramolécula.

Algunos aminoácidos han sido utilizados para dicho fin (Jensen *et al.*, 2014; Löbmann *et al.*, 2013; Laitinen *et al.*, 2014;), mostrando buenos resultados en la estabilidad, disolución y solubilidad de los IFAs. En este estudio se utilizó el aminoácido L-ARG como co-formador para generar fases co-amorfas con los IFAs ya mencionados y mejorar su solubilidad.

PARTE EXPERIMENTAL

Repaglinida (REP) fue obtenida de Laboratorios Ranbaxy (Gurgaon, India), nateglinida (NAT) de Cadila Pharmaceutical Limited (Gujarat, India) y glibenclamida (GLB) fue comprada de Sigma-Aldrich (Misuri, Estados Unidos). El aminoácido L-ARG fue comprado de Sigma-Aldrich (Misuri, Estados Unidos). Todos los disolventes empleados fueron grado reactivo y se utilizaron sin ningún tratamiento adicional.

Caracterización de las fases

- Difracción de Rayos X de polvos (DRXP)

La DRXP se realizó utilizando un difractómetro Bruker D2 Phaser con una fuente de radiación Cu $K\alpha$ ($\lambda=1.54184$ Å), un voltaje de aceleración de 30 kV y una corriente de 10 mA. Las muestras fueron escaneadas de 5° - 60° 2θ con una velocidad de escaneo de 0.091° $2\theta/s$.

- Espectroscopia de infrarrojo (FT-IR)

Se realizó en un equipo Nicolet iS50 con transformada de Fourier (Thermo Scientific, Massachusetts, Estados Unidos) utilizando un accesorio ATR en un rango de 400 - 4000 cm^{-1} . Los espectros obtenidos fueron analizados con el software Thermo Scientific OMNIC (versión 9.2).

- Calorimetría de barrido diferencial (DSC) y análisis termogravimétrico (TGA)

DSC se realizó con un calorímetro Q2000 (TA Instruments, New Castle, Estados Unidos) colocando la muestra (2-3 mg) en portamuestras tzero de aluminio, con un flujo de nitrógeno de 50 mL/min, utilizando dos rampas de temperatura: la primera, calentando la muestra desde $30^\circ C$ hasta $120^\circ C$ con una velocidad de calentamiento de $20^\circ C/min$ y la segunda rampa desde $30^\circ C$ hasta $400^\circ C$ con una velocidad de calentamiento de $10^\circ C/min$.

Para el TGA se utilizó un equipo Q50 (TA Instrument) calentando la muestra en un rango de $30^\circ C$ hasta $400^\circ C$ con una velocidad de calentamiento $10^\circ C/min$ y un flujo de nitrógeno de 50 mL/min.

Preparación de las fases co-amorfas por Evaporación Rápida del Disolvente.

REP:L-ARG (1:1).- Se colocaron 0.22 mmol de REP y 0.22 mmol de L-ARG en un matraz pera, adicionando 50 mL de MeOH para formar una disolución que fue colocada en un rotavapor Büchi R-3 con bomba de vacío V-710 de cuatro cabezales, a $80^\circ C$, disminuyendo paulatinamente la presión hasta alcanzar 30 mbar, eliminando de manera rápida el disolvente hasta la obtención de una espuma sólida.

NAT:L-ARG (1:1).- Se colocaron 0.31 mmol de NAT y 0.31 mmol de L-ARG en un matraz pera, adicionando 50 mL de MeOH para formar una disolución que fue colocada en un rotavapor Büchi R-3 con bomba de vacío V-710 de cuatro cabezales a $80^\circ C$, disminuyendo paulatinamente la presión hasta alcanzar 30 mbar, eliminando de manera rápida el disolvente hasta la obtención de una espuma sólida.

GLB:L-ARG (1:1).- Se colocaron 0.20 mmol de GLB y 0.31 mmol de L-ARG en un matraz pera, siguiendo la técnica anteriormente descrita.

Prueba de solubilidad

La prueba de solubilidad se realizó de acuerdo a lo establecido en la Farmacopea Oficial de los Estados Unidos Mexicanos y la Farmacopea de los Estados Unidos de América. Para la fase REP:L-ARG se utilizó como medio, buffer de ácido cítrico y fosfato de sodio pH 5.0 con 0.05% de lauril sulfato de sodio (SLS) como surfactante; para la fase NAT:L-ARG se utilizó como medio una disolución de ácido clorhídrico 0.01 N con 0.5% de SLS; para la fase GLB:L-ARG se empleó un buffer de borato pH 9.5.

Se determinó el coeficiente de absortividad molar de cada uno de los IFAs, correspondiente a la pendiente generada al graficar la absorbencia vs. la concentración de una serie de disoluciones de concentración conocida. Para REP, la medición se realizó a 300 nm, para NAT a 259 nm y para GLB a 300 nm, en un espectrofotómetro UV-VIS Scínco S-3100. La solubilidad de cada sólido fue medida en intervalos variables utilizando el método de agitación en matraz a $37.5^\circ C$, 200 rpm. Todos los experimentos fueron realizados por triplicado.

RESULTADOS

DRXP.

La figura 1 muestra los patrones de difracción de la mezcla REP:L-ARG así como las respectivas materias primas REP y L-ARG. Se puede observar que la REP al ser sometida a evaporación rápida pasa de la forma cristalina (Figura 1a) a la forma amorfa de REP (Figura 1b). De igual forma, la mezcla REP:L-ARG al ser sometida a la evaporación rápida, se observa un halo de difracción que es indicativo de la obtención de una fase amorfa muy similar a la obtenida para REP amorfa. La ausencia de picos de difracción pertenecientes a las materias primas REP y L-ARG (Figura 1d) nos indica que ambos componentes se están amorfizando, obteniéndose una fase amorfa homogénea. Resulta importante mencionar que arginina sometida a evaporación rápida no sufre ninguna amorfización.

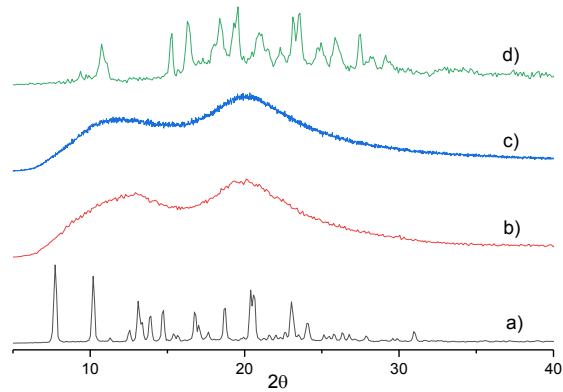


Figura 1. Comparación de los patrones de difracción de a) REP cristalina, b) REP amorfa, c) REP:L-ARG y d) L-ARG

El fármaco NAT se sometió a las condiciones de evaporación rápida, y el difractograma resultante se comparó con el de NAT inicial, observando que el fármaco no cambia su patrón de difracción después del tratamiento (Figura 2a), mientras que el difractograma de polvos para la mezcla de NAT:L-ARG sometida a evaporación rápida (Figura 2b) muestra un halo sin picos de difracción pertenecientes a las materias primas, indicando la obtención de una fase completamente amorfa.

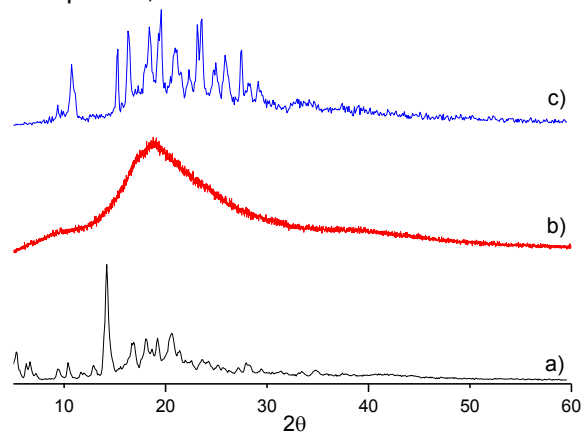


Figura 2. Comparación del patrón de difracción de a) NAT, b) NAT:L-ARG y c) L-ARG.

Finalmente, la GLB al ser sometida a evaporación rápida pasa de la forma cristalina (Figura 3a) a la forma amorfa (Figura 3b). El difractograma obtenido de la mezcla GLB:L-ARG (Figura 3c) muestra un halo de difracción uniforme sin picos de difracción de la L-ARG lo que indica la obtención de una fase amorfa homogénea.

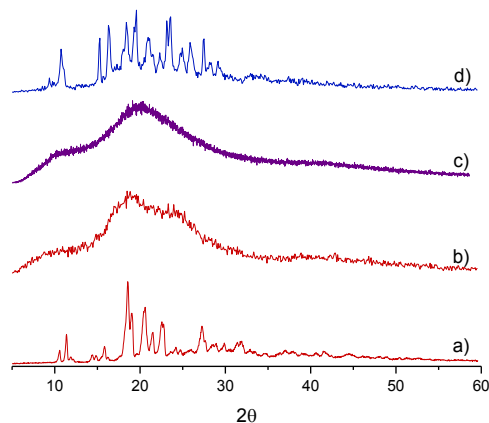


Figura 3. Comparación de los patrones de difracción de a) GLB cristalina, b) GLB amorfa, c) GLB:L-ARG y d) L-ARG.

FT-IR.

Para continuar con la caracterización estructural se obtuvieron los espectros de infrarrojo de las fases co-amorfas obtenidas y se compararon con los espectros IR de las materias primas tratadas en evaporación rápida para determinar ensanchamiento o desplazamientos en las bandas de IR.

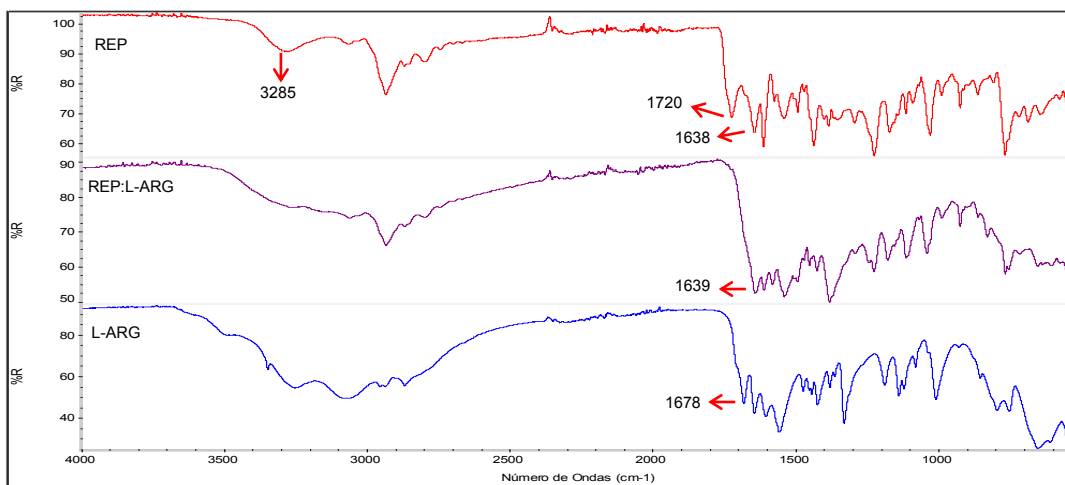


Figura 4. Comparación de los desplazamientos de las bandas de los espectros de infrarrojo del co-amorfo REP:L-ARG (morado) y las materias primas REP (rojo) y L-ARG (azul).

En la Figura 4, se muestran los espectros de FT-IR de la mezcla REP-L-ARG y las materias primas REP y L-ARG; en la comparación del espectro de REP:L-ARG con las materias primas se puede observar un claro ensanchamiento de todas las bandas que confirma la obtención de una fase completamente amorfa. En la zona correspondiente a las vibraciones O-H y N-H, que va de 3300-3000 cm⁻¹ se observan cambios importantes en la forma de las bandas con respecto a las materias primas lo que indica la formación de interacciones intermoleculares entre el fármaco y el coformador. Las bandas asignadas a la vibración C=O del ácido carboxílico y la amida de REP aparecen a 1720 y 1638 cm⁻¹, mientras que la del ácido carboxílico de L-ARG aparece a 1678 cm⁻¹, todas se desplazan a una sola banda con un máximo a 1639 cm⁻¹ indicativo de que se encuentran formando interacciones intermoleculares fármaco coformador. Resulta interesante mencionar, que los desplazamientos mostrados para el enlace doble C=O caen dentro de la región de los ácidos

carboxílicos y no de los caboxilatos ($1540\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$) por lo que se puede concluir que no existe la transferencia de protón de alguno de los ácidos carboxílicos hacia el fármaco o el coformador, obteniéndose fases coamorfos y no sales.

De igual manera, en la comparación del espectro de FT-IR obtenido para la fase amorfa de NAT:L-ARG con los espectros de las materias primas (Figura 5), se puede observar un ensanchamiento de las bandas que confirma la obtención de una fase amorfa. Resulta interesante de observar que la banda asignada a la vibración N-H de la amida en NAT y que se observa a 3348 cm^{-1} , sufre un ensanchamiento en la mezcla NAT:L-ARG, esto se puede explicar al establecimiento de una nueva interacción intermolecular de la amida con el coformador. Las bandas asignadas a la vibración C=O del ácido carboxílico y la amida en NAT y el ácido carboxílico de la L-ARG, que se observan a 1741 , 1699 y 1678 cm^{-1} respectivamente, forman una sola banda ancha con un máximo en 1624 cm^{-1} , este desplazamiento es debido al establecimiento de fuertes interacciones intermoleculares en estos grupos.

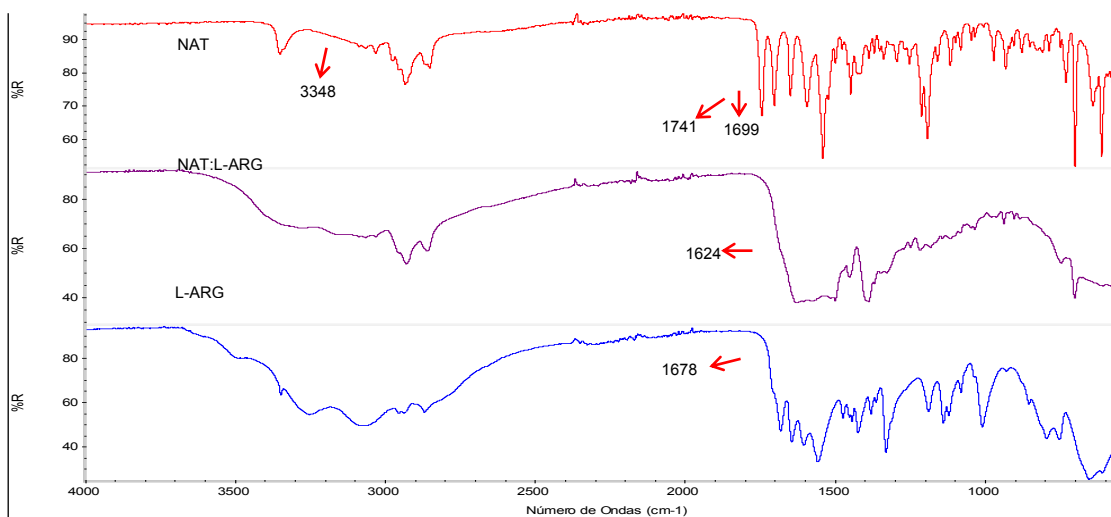


Figura 5. Comparación de los desplazamientos de las bandas de los espectros de infrarrojo del coamorfo NAT:L-ARG (morado) y las materias primas NAT (rojo) y L-ARG (azul).

Para los espectros de FT-IR (Figura 6) de GLB, GLB:L-ARG y L-ARG, se observan desplazamientos importantes en las bandas vibracionales: las bandas correspondientes al enlace N-H de las amidas de GLB se observan a 3365 cm^{-1} y se desplaza a 3352 cm^{-1} en la fase de GLB:L-ARG, de igual manera, las bandas de vibración C=O se observan a 1706 cm^{-1} (Amida) y 1625 cm^{-1} (sulfonilurea) para GLB y a 1678 cm^{-1} para L-ARG; en la fase GLB:L-ARG se observan a 1631 cm^{-1} y 1594 cm^{-1} (sulfonilurea). Finalmente, las bandas asignadas para el enlace S=O de la sulfonilurea en GLB, que se observan a 1156 cm^{-1} (tensión asimétrica) y 1018 cm^{-1} (tensión simétrica), muestran desplazamientos a 1121 y 1016 cm^{-1} en la fase GLB:L-ARG. Estos desplazamientos además del ensanchamiento de las bandas en el espectro son debido al establecimiento de interacciones intermoleculares entre el fármaco y la L-ARG, formando fases co-amorfas puras.

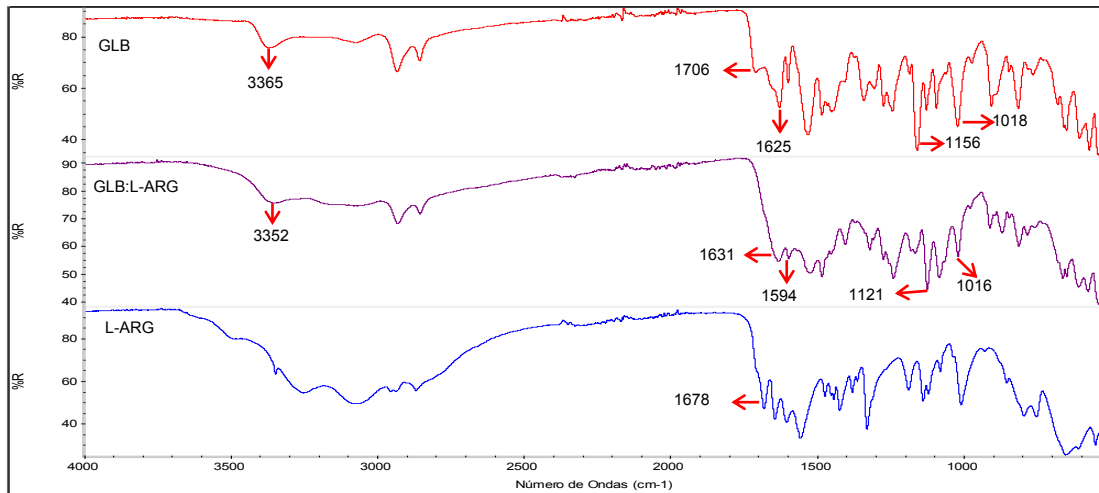


Figura 6. Comparación de los desplazamientos de las bandas de los espectros de infrarrojo del co-amorfo GLB:L-ARG (morado) y las materias primas GLB (rojo) y L-ARG (azul).

DSC, TGA

El termograma de DSC y TGS obtenido para la REP amorfizada (Figura 7b) muestra una transición vítrea propia de una fase amorfa a 49.04 °C, seguido de un pequeño evento exotérmico a 122.67 °C, atribuido a la recristalización del fármaco; posterior a este evento, hay un pico endotérmico a 134.08 °C que corresponde al punto de fusión/descomposición con una pérdida del 94% de la masa. Para REP:L-ARG (Figura 7a), la transición vítrea se presentó hasta los 98.01 °C y confirma la obtención de una fase co-amorfa mientras que a los 183.38 °C el evento exotérmico corresponde a una recristalización, seguida de un evento endotérmico a los 209.21 °C atribuido a un punto de fusión/descomposición que se puede corroborar con la pérdida de masa mostrada en el TGA de hasta 79.12 %. Es importante mencionar que en la fase co-amorfa REP:L-ARG solo se observan un punto de fusión, por lo que se confirma la obtención de una fase co-amorfa pura y no una mezcla física.

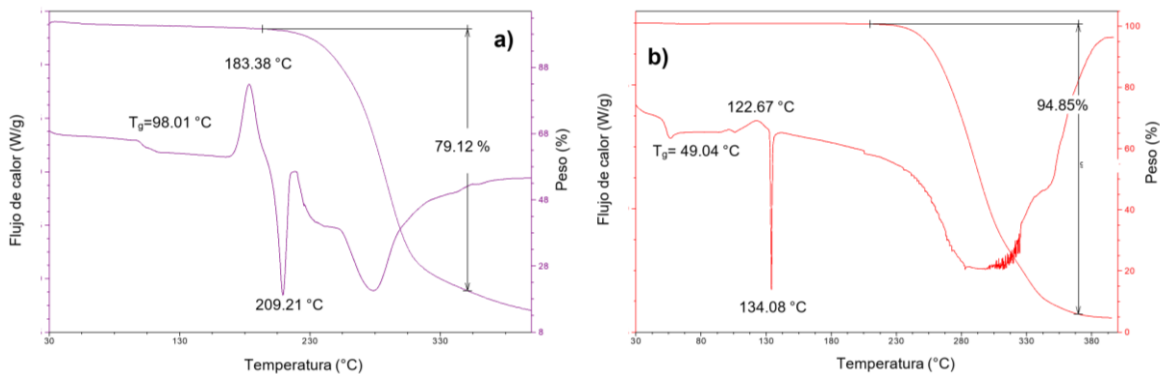


Figura 7. Termogramas de DSC y TGA para a) REP:L-ARG y b) REP amorfizada.

Para el fármaco NAT, el termograma (Figura 8b) únicamente presenta un solo evento endotérmico a 130.05°C que corresponde a un punto de fusión/descomposición con una pérdida de peso del 98.9%, como se puede observar este punto de fusión/descomposición se presenta de manera bien definida, lo que demuestra su carácter cristalino. La fase NAT:L-ARG presentó una T_g a 98.3 °C como se observa en el termograma de DSC (Figura 8a), con lo cual se confirma la obtención de un sólido amorfo vítreo. Posteriormente, a los 195 °C se presentó un evento endotérmico, en donde

mediante el TGA se observa la pérdida del 9.8% que corresponde a la descarboxilación de la fase co-amorfa, cuyo valor teórico se estimó del 9.1%. Posteriormente se observa la descomposición de la muestra con la pérdida de más del 50% del peso. Es importante destacar que el punto de fusión descomposición para la fase NAT:L-ARG se observa como un evento poco definido como el que se observa en NAT, esto se puede atribuir al carácter amorfo de la fase.

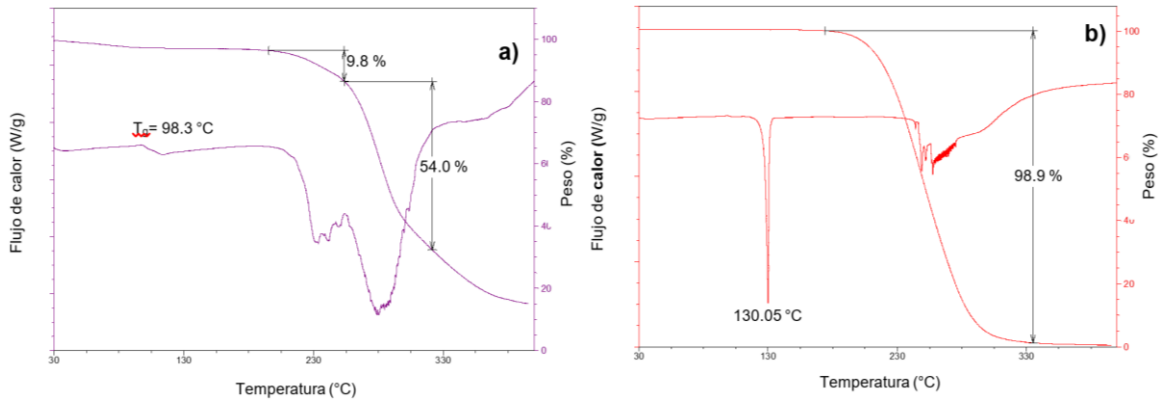


Figura 8. Comportamiento térmico de la fase NAT:L-ARG (a) y del IFA NAT (b).

Finalmente, en el termograma de GLB amorfizada (Figura 9b) se puede observar una transición vítrea a 48.65 °C y posteriormente a 135 °C se puede observar un evento exotérmico correspondiente a la cristalización del fármaco y finalmente a 169.09 °C se observa un punto de fusión/descomposición con la pérdida de un 23% de la masa para posteriormente volverse a descomponer perdiendo casi el 58% de la masa.

Para la fase co-amorfa de GLB:L-ARG (Figura 9a), se observa la transición vítrea a 99 °C que confirma la amorficidad de la fase, posteriormente la fase comienza a descomponerse a los 159.2 °C con una pérdida del 17% de la masa y finalmente, en otra descomposición después de los 210 °C pierde al 57% de la masa. Como es de esperarse para los sólidos amorfos, el punto de fusión/descomposición de la fase GLB:L-ARG no es definido como en el caso de los sólidos cristalinos.

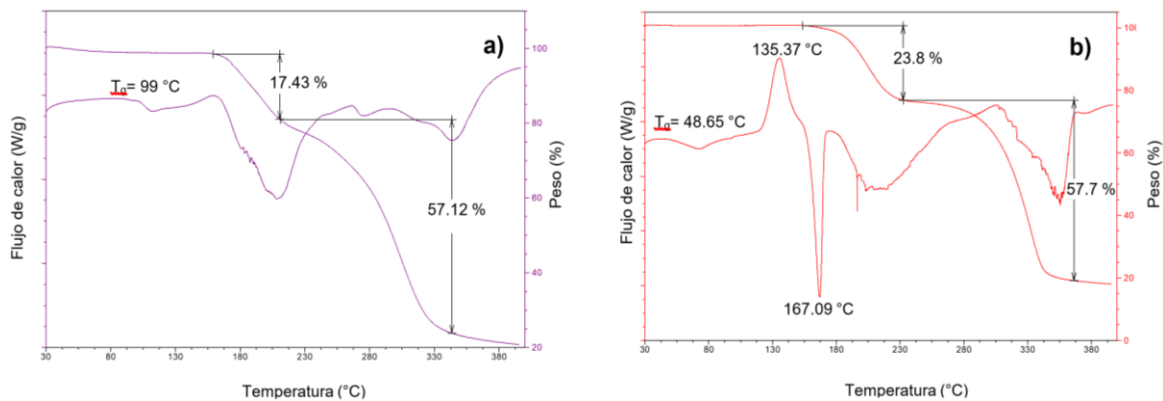


Figura 9. Comportamiento térmico de a) GLB:L-ARG y b) GLB amorfizada.

En la Tabla 1 se muestran los valores obtenidos para las transiciones vítreas y punto de fusión obtenidos en el análisis térmico por DSC.

Tabla 1. Análisis térmico de las NFS formadas en comparación con el fármaco libre

NFS o fármaco	Evento térmico/(°C)	Pérdida de masa
REP	Transición vítrea (49.04 °C)	94.85%
REP:L-ARG	Transición vítrea (98.01 °C)	79.12%
NAT	Punto de fusión (130.05 °C)	98.9%
NAT:L-ARG	Transición vítrea (98.3 °C)	9.8/54%
GLB	Transición vítrea (48.65 °C)	23.8/57.7%
GLB:L-ARG	Transición vítrea (99 °C)	17.43/57.12%

Prueba de solubilidad

Para REP:L-ARG las muestras fueron tomadas después de 1, 24 y 48 h del estudio (Figura 10), obteniendo un valor de 1.26 mg/mL vs. 0.90 mg/mL de REP, mostrando un incremento de 1.4 veces más después de la primera hora. Sin embargo, transcurridas 24 h, el co-amorfo REP:L-ARG presenta una disminución en los valores de solubilidad hasta 0.40 mg/mL que se mantiene hasta las 48 h del estudio, en comparación con REP que mantiene un valor de \approx 0.95 mg/mL. Lo anterior puede deberse, a que una vez en disolución, los puentes de hidrógeno entre REP y L-ARG son disociados, permitiendo la liberación del aminoácido L-ARG y su rápida solubilidad en el medio, que ocasiona el incremento en la solubilidad de REP, sin embargo, a medida que L-ARG se disuelve por completo, REP recristaliza en su forma menos soluble, precipitando en el medio, disminuyendo el valor en la solubilidad (Babu *et al.*, 2011).

Para la fase co-amorfa NAT:L-ARG (Figura 10), se puede observar un incremento considerable de la solubilidad, en donde a 1 h presentó una solubilidad de 6.42 mg/mL en comparación con los 0.59 mg/mL de NAT, el máximo de solubilidad se alcanza a las 2 h de estudio en donde la solubilidad de NAT:L-ARG fue de 7.31 mg/mL con los 0.59 mg de NAT. Finalmente, a las 24 h después del estudio se observa una ligera disminución de la solubilidad quedando en 5.46 mg/mL, sin embargo, a pesar de esto, la solubilidad de NAT se mantiene aproximadamente de 9 veces más que la de NAT.

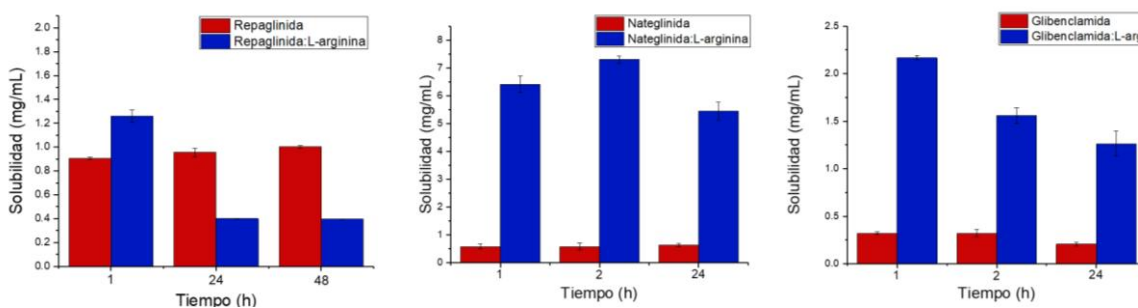


Figura 10. Gráficas de solubilidad de las fases co-amorfas obtenidas y los correspondientes fármacos.

Finalmente, para GLB:L-ARG se puede observar en la Figura 10, que a máxima solubilidad de la fase se alcanza a la hora con un valor de 2.1 mg en comparación con los 0.32 mg de GLB, posteriormente a las dos horas comienza a precipitar el fármaco hasta las 24 hrs, aun así el valor de solubilidad de la fase es 5 veces mayor con respecto a GLB, este comportamiento coincide con lo

descrito por Guzmán *et al.*, 2007, en donde se describe la formación de una forma metaestable del IFA (GLB), lo que mantiene una alta concentración de éste en el medio por un tiempo considerable.

CONCLUSIONES

El uso de la estrategia de evaporación rápida fue factible para la obtención de las NFS de los fármacos repaglinida, nateglinida y glibenclamida con el aminoácido L-Arginina.

De acuerdo a los resultados obtenidos a partir de los cambios en el patrón de difracción, los ensanchamientos y desplazamientos de las bandas en los espectros de infrarrojo y la identificación de las transiciones vítreas, pudieron ser caracterizadas las fases co-amorfas repaglinida:L-Arginina, nateglinida:L-Arginina y glibenclamida:L-Arginina.

Se observó que los valores en la solubilidad de las NFS co-amorfas mostraron mejoras significativas en comparación con el fármaco puro, por lo que la generación de fases co-amorfas es una alternativa eficaz para mejorar las propiedades fisicoquímicas y/o biofarmacéuticas.

BIBLIOGRAFÍA

1. H. R. Guzman, M. Tawa, Z. Zhang, P. Ratanabanangkoon, P. Shaw, C.L. Gardner, H. Chen, J.P. Moreau, Ö. Almarsson y J.F. Remenar, Combined use of crystalline salt forms and precipitation inhibitors to improve oral absorption of celecoxib from solid oral formulations, *J. Pharm. Sci.*, 96, 2007, pp. 2686–2702.
2. K. Löbmann, H. Grohgan, R. Laitinen, C. Strachan y T. Rades, Aminoacids as co-amorphous stabilizers for poorly water soluble drugs. Part 1: Preparation, stability, and dissolution enhancement, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, Vol. 85, 3, 2013, pp. 678-686.
3. K. T. Jensen, K. Löbmann, T. Rades y H. Grohgan, Improving Co-Amorphous Drug Formulations by the Addition of the Highly Water Soluble Amino Acid, Proline, *Pharmaceutics*, 6, 2014, pp. 416-435.
4. N. J. Babu y A. Nangia, Solubility advantage of amorphous drugs and pharmaceutical cocrystals, *Cryst. Growth. Des.*, 11, 2011, pp. 2662-2679.
5. R. Laitinen, K. Löbmann, H. Grohgan, C. Strachan y T. Rades, Amino Acids as Co-amorphous Excipients for Simvastatin and Glibenclamide: Physical Properties and Stability, *Mol. Pharmaceutics*, 11, 2014, pp. 2381-2389.
6. S. Kalepu y V. Nekkanti, Insoluble drug delivery strategies: review of recent advances and business prospects, *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 5, 2015, pp. 442-453.

ESTUDIO DEL EFECTO ANTIMICÓTICO DE LA ESPECIE VEGETAL *C. BUNGUEI* FRENTE A *TRICHOPHYTON RUBRUM* Y *CANDIDA ALBICANS*

Guadalupe López Olivares¹, Elizabeth Vargas Anaya¹, María de la Cruz Meneses Sánchez¹, Alejandra Castro Lino¹, Lidia Meléndez Balbuena¹ y Josué Efraín Cruz Santos²

¹Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Inorgánica, ²Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Biológicas. Estudiante de Biología matrícula 201240107.

RESUMEN

Las plantas han sido utilizadas con fines medicinales de manera tradicional desde la antigüedad para tratar diferentes dolencias; la especie vegetal *C. bungei* ha sido ampliamente utilizada en medicina tradicional de países como India, China, Japón, etc. para tratar caso de fiebre, diabetes, cáncer y otras patologías; en México se utiliza para tratamiento de afecciones de la piel entre otros usos, en el presente trabajo se realiza la extracción de compuestos de *C. bungei* en cinco solventes con material fresco, utilizando las hojas, por maceración simple y por maceración dinámica, se procedió a la prueba biológica de inhibición en *Trichophyton rubrum* y *Candida albicans* en placas de Petri con agar dextrosa sabouraud, y posteriormente con la inoculación de las cepas; *C. bungei* se incubó a 35°C durante 48 horas y *T. rubrum* se incubó a temperatura ambiente durante una semana, al analizar los resultados se obtiene que se presenta una inhibición en ambas cepas solo en el extracto de etanol en material fresco, mientras que en material seco con etanol se presenta una inhibición total en el caso de *C. albicans*, y una inhibición parcial con un crecimiento ligero en *T. rubrum* en todas las concentraciones realizadas.

INTRODUCCIÓN

Las plantas del género *Clerodendrum* son originarias de China, solo aproximadamente cinco se consideran endémicas de Mesoamérica, gran cantidad de estas especies han sido utilizadas en el tratamiento de medicina tradicional en el continente asiático como India, China, Japón; En México ha sido utilizada principalmente para infecciones de la piel, tos, dolores musculares y de cabeza, y presenta efectos antibacterianos, anti fúngicos y antiparasitarios. Los habitantes de las localidades de China utilizan las hojas y tallos de *C. bungei* para desintoxicar y desentumecer. Los preparados de ramas y hojas han sido utilizados para tratar forúnculos, hemorroides, dermatitis, e hipertensión; por su parte, las raíces son utilizadas contra el reumatismo, beriberi, hipertensión y el prolapso uterino. Se han investigado sus efectos analgésicos y/o anestésicos, sedativos e hipnóticos, sus propiedades antitumorales, y beneficios en el tratamiento de la malaria. En la comunidad de Zacatipan, perteneciente al municipio de Cuetzalan del Progreso en el Estado de Puebla, emplean extractos hidroalcohólicos de *C. bungei* para tratar la onicomiasis producida por hongos y levaduras que afecta las uñas de pies y manos. Dicha enfermedad es causada por dermatofitos como principal agente etiológico *Trychophyton rubrum* y también por la levadura del género *Cándida*. Es importante mencionar que el uso de manera tradicional proporciona alivio en el caso de la onicomiasis en particular, sin embargo no logra eliminar de manera radical la presencia de los microorganismos que la provocan.

PARTE EXPERIMENTAL

Se realizaron cinco extracciones por separado con material fresco de *C. bungei*, se trabajó con las hojas de la especie vegetal en los solventes que se muestran en la tabla 1, se realizó la extracción por maceración simple durante dos semanas con agitación manual ocasional, en recipientes de vidrio ambar completamente sellados, en ausencia de luz, para esto se colocaron los recipientes en un anaquel limpio, seco y completamente cerrado.

Solvente	Planta
Cloroformo	40g
Etanol	50g
Metanol	40g
Acetona	40g
Agua	40g

Tabla 1. Solventes utilizados para realizar los extractos, gramos de planta en fresco utilizado.

Posteriormente para el segundo ensayo las muestras frescas de hojas de *C. bungei*, se lavaron, pesaron y secaron a 40°C durante un periodo entre 24 a 48 horas. Se colocaron 15 gramos de hojas secas y tamizadas con tamiz malla 20 en 350 ml de etanol grado reactivo marca J.T. Baker con 99.7% de pureza en un vaso de precipitado, cerrado y cubierto con papel aluminio protegido de la luz, se mantuvo en agitación constante por 24 horas; se decantó y se repitió el procedimiento dos veces más con el residuo sobrenadante.

El ensayo biológico se realizó en cajas Petri de 90mm de diámetro con Agar Dextrosa Sabouraud (ABD), un hisopo estéril es embebido en el extracto se desliza por el medio ABD de manera uniforme hasta que el extracto es absorbido por el medio, posteriormente las placas se inocularon con las especies de *T. rubrum* y *C. albicans*, se realizó el ensayo por triplicado.

Cepa	Tiempo de incubación
<i>Canida albicans</i>	A 35°C por 48hrs.
<i>Trichophyton rubrum</i>	1 semana a temperatura ambiente

Tabla 2. Tiempo de incubación por cada una de las especies

Para los primeros cinco extractos se utiliza una concentración al 100% del extracto inicial de las hojas de *C. Bungei* y para el segundo extracto en etanol en concentraciones de 100%,75%,50% y 25%.

RESULTADOS

De los primeros cinco extractos utilizados en una concentración al 100% el extracto etanólico fue el único en mostrar una inhibición positiva ante ambas especies fúngicas debido a que es un disolvente menos específico y suele extraer la mayoría de compuestos presentes en la droga vegetal, mientras que el agua tiene poca estabilidad y gran poder hidrolítico, mientras que los demás solventes tienen especificidad sobre algunos componentes particulares. En la tabla 3 se muestran los resultados obtenidos sobre la inhibición de *Trichophyton rubrum* y *Cándida albicans* respectivamente en cada solvente utilizado.

Resultados de inhibición para el primer ensayo		
	<i>Trichophyton rubrum</i>	<i>Cándida albicans</i>
Etanol	Positiva	Positiva
Metanol	Negativa	Negativa
Cloroformo	Negativa	Negativa
Acetona	Negativa	Negativa
Agua	Negativa	Negativa

Tabla 3. Efecto inhibitorio de los extractos realizados con material fresco de *C. bungei* ante *T. rubrum* y *C. albicans*.

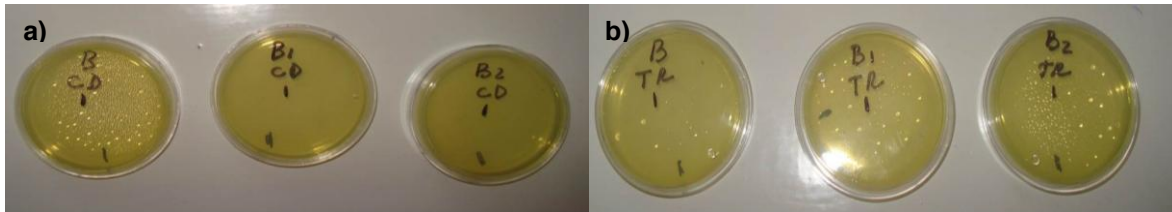


Figura 1. Placas de agar dextrosa Sabouraud con extracto etanólico obtenido por maceración simple. a) Crecimiento inhibido de *C. albicans* b) Crecimiento inhibido de *T. rubrum*.

En el segundo ensayo con etanol en maceración dinámica a diferentes concentraciones se obtuvo inhibición de *C. albicans* en todas sus concentraciones y una inhibición parcial de *T. rubrum* en todas las concentraciones considerando que también puede influir la concentración del inóculo y no solo la del extracto. A pesar de ello se presenta una inhibición en concentraciones bajas del 25% de ambas especies.

Resultados de crecimiento para el segundo ensayo		
	<i>Trycophyton rubrum</i>	<i>Candida albicans</i>
100%	+	-
75%	+	-
50%	+	-
25%	+	-

Tabla 4. Efecto antimicótico de extracto de *C. bungei* por maceración dinámica con material seco a diferentes concentraciones. + + +: Crecimiento denso; + +: Crecimiento moderado; +: Crecimiento ligero; -: Ausencia de crecimiento.

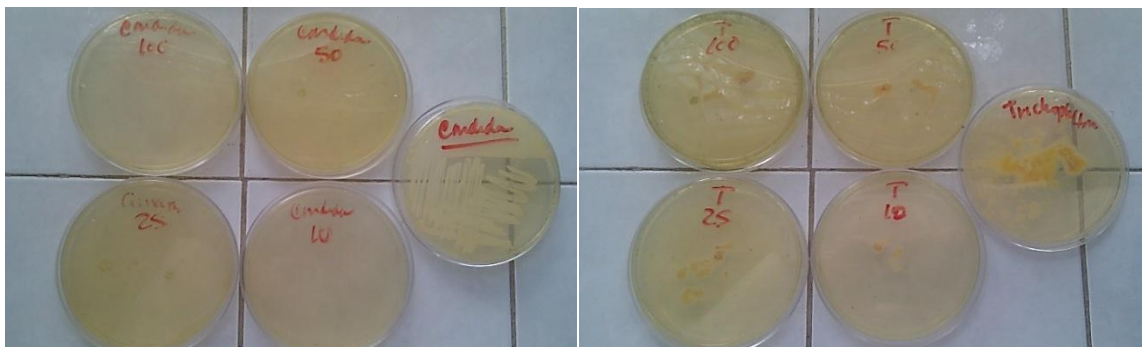


Figura 2. Placas de agar dextrosa Sabouraud con extracto etanólico obtenido por maceración dinámica. a) Crecimiento ausente de *C. albicans* b) Crecimiento ligero de *T. rubrum*. En ambos casos, la placa de la derecha muestra un control positivo.

CONCLUSIONES

Se determinó que en el extracto etanólico existe mayor presencia de compuestos con actividad anti fúngica frente a las especies de *C. albicans* y *T. rubrum* al realizar los extractos con planta en fresco, Se logró comprobar que la maceración dinámica con material seco es la metodología óptima para el agotamiento de la materia vegetal y la obtención de los extractos necesarios para estudios químicos. Se comprobó que el extracto de etanol tiene efecto antifúngico inclusive en concentraciones bajas de hasta el 25%, siendo efectivo para el tratamiento de onicomicosis.

BIBLIOGRAFÍA

1. Rueda, R. M. *Annals of the Missouri botanical garden* 1993 80(4), 870-890.
2. Kar, P; Das, A.P.; Sen, A. *international journal of green pharmacy* 2014, 8(4) 201-216.
3. Alvarado, A.; Hernandez G.; Fernandez R. *Dermatología rev. Mex.* 2014, 58,323-330
4. Manzana P.; Mendez, L.J. *Revista iberoamericana de micología*, 2011, 21(1), 32-35

SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE HIERRO PARA LA ADMINISTRACIÓN DE FÁRMACOS CONTRA LA BACTERIA *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*.

Marco Antonio González López¹, Elene Marcia Gutiérrez Cárdenas², Crithfían Sánchez Cruz³ y José de Jesús OlivaresTrejo³

¹Catedrático CONACYT, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, ²Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, ³Universidad Autónoma de la Ciudad de México.
marconyqfb@yahoo.com.mx

RESUMEN

Streptococcus pneumoniae es la bacteria causante de neumonía bacteriana. A nivel mundial es responsable de altas tasas de mortalidad en infantes. El tratamiento de las enfermedades causadas por *Streptococcus pneumoniae* se basa en el uso de antibióticos; sin embargo, el uso indiscriminado de fármacos en conjunto con las altas dosis aplicadas, favorecen el crecimiento de cepas resistentes a uno o varios antibióticos. Una alternativa de tratamiento es emplear nanopartículas con la capacidad de acarrear fármacos, las cuales pueden viajar por el torrente sanguíneo y llegar a un tejido específico donde destruirán sólo a las bacterias patógenas. Se diseñaron nanopartículas de hierro como acarreadores. Material y Métodos: se Diseñaron y sintetizaron nanopartículas de hierro que fueron probadas contra la bacteria *Streptococcus pneumoniae*, el efecto de la nanopartícula fue comparado contra el efecto provocado por el fármaco ampicilina. Resultados: Las nanopartículas de hierro de 20 nm, a una concentración de hasta 20,000 µg/mL no provocaron inhibición del crecimiento, un resultado similar fue observado cuando el tamaño de nanopartícula fue incrementado hasta cuatro veces más. Las nanopartículas fueron probadas en bacterias Gram negativas (un aislamiento clínico de *Serratia mercenscens* y la cepa tipo *Escherichia coli* ATCC 25922) y en bacterias Gram positivas (cepas tipo de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 y *Staphylococcus aureus* ATCC 29213), en ninguno de los casos se observó una inhibición del crecimiento. Conclusiones: Nuestros resultados sugieren que las nanopartículas de hierro son inocuas para las bacterias, por lo que pueden ser un buen candidato para transportar antibióticos en cantidades ínfimas dentro del hospedero y dirigirlos hacia sitios específicos donde se pretende concentrar el antibiótico para atacar sólo a las bacterias patógenas. Todo esto conducirá a una mejor calidad de vida para el paciente.

INTRODUCCIÓN

Streptococcus pneumoniae (*S. pneumoniae*) es una bacteria gram positiva, agente causal de varios cuadros clínicos a nivel de vías respiratorias superiores, como otitis media, sinusitis aguda, septicemias, meningitis y neumonía¹. Se ha observado que las cepas de esta bacteria han incrementado su resistencia a fármacos, como la penicilina, ahora se emplean antibióticos como las cefalosporinas, cloranfenicol y cotrimoxazol¹. Sin embargo, *S. pneumoniae* ha presentado resistencia a estos antibióticos. Ante este problema es necesario plantearse alternativas para eliminar esta bacteria, actualmente se han desarrollado nanopartículas (NPs), las NPs son partículas microscópicas de hasta 100 nanómetros (nm) de tamaño², sus aplicaciones son varias pero en el área de la medicina se ha trabajado con las NPs de plata, se ha demostrado una buena efectividad³. Sin embargo, estas NPs no distinguen entre las bacterias de la flora normal y las bacterias patógenas por lo que su uso en el humano puede llegar a ser contraproducente, por lo tanto estamos en la búsqueda de una alternativa que salve este problema, para este fin diseñamos NPs de hierro (Fe) que sean inocuas, para en un futuro poderle anexar un antibiótico, lo cual garantizaría sólo eliminar a la bacteria y disminuir la cantidad de antibiótico administrado.

PARTE EXPERIMENTAL

Se sintetizaron las NPs de hierro de la siguiente manera: se disolvieron 5g (18,5mmoles) de FeCl₃.6H₂O en 50mL de agua y se vierte sobre una suspensión de sílice en 400mL de agua, tal que el porcentaje de metal sea un 10% p/p en relación con la sílice. Esta suspensión se deja bajo agitación durante 24 horas, luego se gotea un exceso de solución de NH₄OH diluido y se agita durante 24 horas más. Cuando el soporte es sílice se precipita y se decanta el sobrenadante y el sólido obtenido es lavado con agua fría a fin de eliminar todo el exceso de NH₄OH y hierro no

adsorbido; finalmente se seca al vacío con calentamiento suave. Las NPs probadas tienen un tamaño de 4, 8, 16, 20 y 32 nm, las cepas empleadas en esta investigación fueron: *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 y en un aislado clínico de *Serratia marcescens*. Se realizó un ensayo sólo con antibiótico, sin NPs, como lo marca la CLSI para verificar que el antibiótico tuviera la potencia y actividad adecuada. A su vez se hicieron mezclas de NPs con el antibiótico. Las bacterias gram positivas fueron probadas con diferentes concentraciones de NPs, desde 0.03 hasta 20,000 µg/mL. Se realizaron pruebas con diferentes concentraciones en una combinación de Nps/Penicilina desde 3/0.003 µg/mL hasta 100/0.12 µg/mL. Se realizaron pruebas con diferentes concentraciones en una combinación de NPs/Eritromicina. Se manejaron diferentes concentraciones de antibiótico para cada una de las bacterias, por los valores de corte que tienen. En el caso de las bacterias gram negativas las condiciones de las pruebas fueron semejantes. Las concentraciones empleadas de antibiótico fueron seleccionadas con base a los valores de corte que establece la CLSI (Tabla 1). Se emplearon las concentraciones a las cuales la bacteria es normalmente resistente.

Tabla 1. Concentración de los diferentes fármacos empleados a la cual las bacterias analizadas son resistentes.

Bacteria ATCC	Penicilina [mg/mL]	Eritromicina [mg/mL]	Ampicilina [mg/mL]	Gentamicina [mg/mL]
<i>S. pneumoniae</i> 49619	0.25 a 1	0.03 a 0.12	-	-
<i>S. aureus</i> 29213	0.25 a 1	0.25 a 1	-	-
<i>E. coli</i> 25922	-	-	2 a 8	0.25 a 1

RESULTADOS

En términos generales las NPs de hierro resultaron ser inocuas para las bacterias. En el caso de las bacterias gram positivas, *S. pneumoniae* y *S. aureus*, ninguna de las concentraciones empleadas de NPs de 20 nm, ni en combinación con los antibióticos causaron la lisis de las bacterias (Tabla 2).

Tabla 2. El crecimiento de las bacterias gram positivas no se vio afectado por la presencia de las NPs ni cuando estas estuvieron en combinación con los diferentes antibióticos

Bacteria ATCC	Nanopartícula [mg/mL]	Nanopartícula/Antibiótico [mg/mL]		
		Penicilina	Eritromicina	Eritromicina
	0.03 a 20000	3/0.003 a 100/0.12	3/0.003 a 100/0.12	3/0.0005 a 100/0.015
<i>S. pneumoniae</i> 49619	Desarrollo	Desarrollo	-	Desarrollo
<i>S. aureus</i> 29213	Desarrollo	Desarrollo	Desarrollo	-

Un resultado similar se observó en el caso de las bacterias gram negativas *E. coli* y en *S. marcescens* (Tabla 3).

Tabla 3. El crecimiento de las bacterias gram negativas no se vio afectado por la presencia de las NPs ni cuando estas estuvieron en combinación con los diferentes antibióticos.

Bacteria ATCC	Nanopartícula [mg/mL]	Nanopartícula/Antibiótico [mg/mL]	
		Ampicilina	Gentamicina
	0.03 a 20000	3/0.03 a 100/1	3/0.003 a 100/0.12
<i>E. coli</i> 25922	Desarrollo	Desarrollo	Desarrollo
<i>S. marcescens</i>	Desarrollo	Desarrollo	Desarrollo

Por lo que decidimos emplear, solamente, diferentes tamaños de NPs, 4, 8, 16 y 32 nm, para observar si el tamaño de NP provocaba la lisis de la bacteria, nuevamente se observó desarrollo de las bacterias (Tabla 4).

Tabla 4. El desarrollo del aislado clínico de *S. marcescens* no se vio afectado por el tamaño de las NPs

Bacteria	Nanopartícula nm	Nanopartícula [mg/mL] 0.03 a 20000
<i>S. marcescens</i>	4	Desarrollo
<i>S. marcescens</i>	8	Desarrollo
<i>S. marcescens</i>	16	Desarrollo
<i>S. marcescens</i>	32	Desarrollo

CONCLUSIONES

Los resultados presentados sugieren que las NPs de hierro son inocuas para las bacterias y posiblemente tengan un comportamiento similar frente a las células humanas, por lo que, la dosis de antibiótico usada sería menores a las ya empleadas. De esta forma se evitará el uso indiscriminado de antibióticos disminuyendo la posibilidad de generar resistencia bacteriana, además se evitará la destrucción de la flora normal. Todo esto conducirá a una mejor calidad de vida para el paciente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Prado V. Conceptos microbiológicos de *Streptococcus pneumoniae*. Rev Chil Infect. 2001; 18:6-9.
2. Parveen S, Misra R, Sahoo S. Nanoparticles: A boon to drug delivery, therapeutics, diagnostics and imaging. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. 2012; 8:147-166.
3. De Jong WH, Borm PJ. Drug delivery and nanoparticles: Applications and hazards. International Journal of Nanomedicine. 2008; 3:133–149.

MODELO PRODUCTIVO DEL HONGO PLEUROTUS OSTREATUS COMO UN SISTEMA AGROECOLÓGICO INCORPORANDO INDICADORES DE SUSTENTABILIDAD.

*Karla Nallely Hernández Rivera¹, Miriam Vela Hernández¹, Hector Julio García Flores ²
*karlanallely@hotmail.com

¹Instituto Politécnico Nacional-Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada Tlaxcala, Carretera Estatal Santa Inés Tecuexcomac-Tepetitla Km. 1.5 Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala, C.P.90700. ²Benemérita Universidad Autónoma de Puebla-Facultad de Ciencias Biológicas.

RESUMEN

El trabajo propuso un modelo productivo de hongos comestibles de acuerdo con las necesidades expresadas por los productores agrícolas, desarrollando sus capacidades, fortaleciendo su conocimiento, buscando empatar el concepto de sustentabilidad, y mejorando sus capacidades productivas e integrando en su agroecosistema la producción del hongo *Pleurotus ostreatus* CP-753. Se consideraron algunos puntos del Marco para la Evaluación de Sistemas de Manejo de recursos naturales incorporando Indicadores de Sustentabilidad (MESMIS) y Plan Rector de Producción y Conservación (PRPC) para la evaluación de los tres ejes de sustentabilidad (ambiental, social y económico) construidos "ad hoc" en la comunidad de San Félix Hidalgo del Municipio de Atlixco en el Estado de Puebla. Se realizaron diversas entrevistas diagnósticas a los productores con el objetivo de conocer sus problemas e inquietudes, los resultados obtenidos en los cuestionarios nos permitieron identificar las principales necesidades y puntos críticos. Asimismo, con los datos anteriores se realizó la propuesta de indicadores para cada eje. Se logró proponer 9 indicadores de eficiencia, tres para cada subtema: 3 ambientales, 3 sociales y 3 económicos. Con respecto a la producción *P. ostreatus* se obtuvo la cosecha de los carpóforos en un intervalo de 42-45 días, el cultivo de estos hongos constituyen una excelente alternativa sustentable y una forma para obtener un alimento de buena calidad nutricional y saludable por la posibilidad de producir grandes cantidades en pequeñas áreas, mediante técnicas sencillas, a bajo costo, en cortos periodos de tiempo, sin fumigarse ni fertilizarse.

INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas más graves que enfrenta la humanidad a nivel mundial es el impacto en el medio ambiente, por lo que cada vez se escucha con mayor frecuencia el término de desarrollo sustentable.

El desarrollo sustentable o sostenible puede ser definido como "un desarrollo que satisface las necesidades del presente sin comprometer la capacidad de las futuras generaciones de satisfacer sus propias necesidades". Esta definición fue empleada por primera vez en 1987, cuando la Comisión Mundial del Medio Ambiente de la ONU, creada en 1983 publicó el informe "Nuestro futuro común". Sin embargo, este concepto fue realmente adoptado hasta 1992 por 108 Jefes de Estado, en Río de Janeiro, durante la Conferencia de las Naciones Unidas sobre el medio ambiente y el desarrollo. Esta reunión, conocida como "La Cumbre de la Tierra", fue la oportunidad de adoptar un programa de acción para el siglo XXI, llamado Programa 21 o Agenda 21 la cual es un prototipo de normas tendientes al logro del desarrollo sostenible desde el punto de vista social, económico y ecológico (Badii, 2004).

En los últimos años, debido a la importancia que tuvo la Agenda 21 se continuo con los objetivos del desarrollo sostenible y en el año 2000 se realizó la Cumbre del Milenio para trabajar a favor de ocho Objetivos de Desarrollo del Milenio (ODM): 1) Erradicar la pobreza extrema y el hambre, 2) Lograr la enseñanza primaria universal, 3) Promover la igualdad entre los géneros y la autonomía de la mujer, 4) Reducir la mortalidad infantil, 5) Mejorar la salud materna, 6) Combatir el VIH/SIDA, el paludismo y otras enfermedades, 7) Garantizar la sostenibilidad del medio ambiente y 8) Fomentar una asociación mundial para el desarrollo.

A pesar de los grandes éxitos obtenidos con los ODM, el progreso fue desigual y hubo deficiencias en muchas áreas. Por esta razón, con el fin de continuar en la nueva era del desarrollo en 2015 los Estados Miembros de la ONU aprobaron la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible, que incluye un conjunto de 17 Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) y retomaron los ODM con el fin de lograr los objetivos: 1) Fin de la pobreza, 2) Hambre cero, Salud y bienestar, 3) Educación de calidad, 4)

Igualdad de género, 5) Agua limpia y saneamiento, 6) Energía asequible y no contaminante, 8) Trabajo decente y crecimiento económico, 9) Industria, innovación e infraestructura, 10) Reducción de las desigualdades, 11) Ciudades y comunidades sostenibles, 12) Producción y consumo responsables, 13) Acción por el clima, 14) Vida submarina, 15) Vida de ecosistemas terrestres, 16) Paz, justicia e instituciones sólidas y 17) Alianzas para lograr los objetivos.

Por otra parte, durante los últimos años, se ha comenzado a dar mayor importancia a nivel mundial la Responsabilidad Social Empresarial (RSE), donde contempla el impacto de la empresa en su triple dimensión: económica, social y medioambiental, teniendo como objetivos principales la consecución del desarrollo sostenible y la consiguiente generación de valor para todos los grupos de interés en el largo plazo. Dentro de este marco de sustentabilidad, en los años 80 surgió un movimiento agroecológico que promueve agroecosistemas sustentables desde el punto de vista ambiental y sociocultural, incorporando la agroecología, como la disciplina que brinda los principios ecológicos básicos sobre cómo estudiar, diseñar y manejar sistemas que sean productivos, que sean respetuosos de los recursos naturales, con alta sensibilidad cultural y viables socioeconómicamente (Altieri, 2002).

En México y en varias partes de América Latina la principal herramienta metodológica empleada para evaluar la sustentabilidad en agroecosistemas, es el "Marco para la Evaluación de Sistemas de Manejo de Recursos Naturales Incorporando Indicadores de Sustentabilidad" conocido por sus siglas (MESMIS) (Maser *et al.*, 1999). MESMIS se basa en 7 atributos (Productividad, Estabilidad, Resiliencia, Confiabilidad, Adaptabilidad, Equidad y Auto seguridad), aunque posteriormente es necesario identificar varios puntos críticos para la sostenibilidad del sistema, los que luego se relacionan con tres áreas de evaluación (ambiental, social y económica). En cada área de evaluación se definen criterios de diagnóstico e indicadores. Este mecanismo asegura una relación entre los indicadores y los atributos generales (López *et al.*, 2001).

Actualmente se sabe que el Plan Rector de Producción y Conservación (PRPC), es una herramienta para lograr la conservación, rehabilitación y aprovechamiento racional y eficiente de los recursos naturales. Ejecuta proyectos diversificados de fomento económico (agropecuarios y no agropecuarios) ofrece alternativas y acciones de combate a la pobreza y de arraigo en sus lugares a los pobladores. También promueve alternativas que participan de manera activa y decidida en la planeación, en la gestión y en la puesta en operación de proyectos viables técnica, económica y socialmente. Por esta razón, el PRPC se utilizará en la presente investigación como instrumento de gestión entre los productores del Rancho Texiquemetl.

Una manera simple para diagnosticar al estado del agroecosistema es la construcción de indicadores de sustentabilidad, los cuales permiten conocer de manera particularizada las necesidades de manejo de cada sistema con la intención de mantener o mejorar la productividad, aumentar los servicios ecológicos y socioeconómicos, proteger la base de recursos y prevenir la degradación de suelos, agua y biodiversidad, sin disminuir la viabilidad económica del sistema (Altieri, 1997).

Los indicadores presentan siete características importantes: 1) Deben ser de fácil medición, 2) La recolección de información no debe ser ni difícil ni costosa, 3) Los productores y técnicos deben participar en su diseño y medición, 4) Las mediciones deben poder repetirse a través del tiempo, 5) Deben ser significativos al concepto de eficiencia de los sistemas o microcuencas analizados, 6) Deben ser sensibles a los cambios en el sistema y 7) Deben analizarse las relaciones con otros indicadores (Claverias, 2000).

La revisión bibliográfica ha demostrado que la biotecnología de hongos comestibles es una excelente alternativa sustentable, ya que el mayor impacto de los beneficios sociales, económicos y ecológicos generados por esta actividad productiva toma lugar en este siglo (Martínez-Carrera *et al.* 2000). Hoy en día el interés de los hongos comestibles ha crecido significativamente debido a sus propiedades nutrimentales y medicinales. Nutricionalmente aportan alto valor proteico, fibra, carbohidratos, vitaminas y minerales (Cohen *et al.*, 2002). Otro punto importante es que las familias campesinas mexicanas "añoran con nostalgia" estos hongos comestibles ya que de forma natural crecían en temporadas de lluvia, sin embargo, actualmente ya no crecen por la pérdida de la biodiversidad.

El hongo *P. ostreatus* es la tercera seta más importante para la alimentación, los carpóforos del hongo seta son una excelente fuente de proteína de buena calidad, su contenido es expresado como porcentaje en peso seco es de 10.5-30.4%, contiene todos los aminoácidos esenciales donde los que predominan son la alanina, el ácido glutámico y la glutamina (Fenema, 2000; Miles y Chang,

2004; Barros *et al.*, 2008). En lo que respecta al contenido de lípidos, Gaitán (2006) menciona que el contenido de grasas en el hongo seta es de 0.9-1.8% con base en su valor seco. También se ha informado que los tres principales ácidos grasos presentes en los basidiocarpos de *P. ostreatus* son: ácido linoleico, ácido palmítico, y ácido estéreo. El ácido graso dominante en los cuerpos fructíferos es el ácido linoleico (Bautista, 1997; Benavides *et al.*, 2015).

Los hongos pertenecientes al género *Pleurotus spp.*, al igual que otros basidiomicetos producen una serie de bioactivos útiles en el desarrollo de medicinas naturales por su valor funcional esto fue reportado por Cano y Romero, 2016; Cohen *et al.*, 2002; Miles y Chang, 2004. Estas sustancias son conocidas actualmente son conocidas como sustancias funcionales, nutraceuticas o nutraceuticas y tienen un rol en la prevención de enfermedades y en algunos casos en la supresión de una enfermedad (Ikekawa, 2001). Recientes investigaciones han demostrado que *Pleurotus spp.* poseen efectos antivirales, anticancerígenos, antibióticos, antibacterianas, hipocolesterólicas, inmunomoduladoras, antioxidantes, antiinflamatorias y antidiabéticas (Chang y Miles, 1989; Castaño *et al.*, 2007; Cohen *et al.*, 2002).

Con base a lo anterior, se planteó como objetivo un modelo productivo del hongo *P. ostreatus* CP-753 de acuerdo con las necesidades planteadas por los productores a través de una consulta pública, sobre la integración de conceptos de sustentabilidad y responsabilidad social a su agroecosistema en donde el interés principal no radica en la generación de ganancias en el corto plazo, sino en una visión de largo plazo buscando la permanencia y recuperación de sus recursos naturales.

METODOLOGÍA

El presente trabajo se realizó, en el Rancho Texiquemetl que pertenece a la comunidad de San Félix Hidalgo del Municipio de Atlixco en el Estado de Puebla. Se ubica en las coordenadas geográficas 18° 54' 18.9" latitud Norte y 98° 24' 34.4" longitud Oeste, a una altura de 1735 msnm.

Se aplicaron entrevistas a los productores del rancho con el objetivo de conocer sus necesidades e inquietudes, reconocer sus fortalezas, debilidades, oportunidades y amenazas, de igual forma conocer qué hongo comestible estaban interesados en producir y recopilar información para generar en conjunto los indicadores de sustentabilidad. Ante esta situación los productores decidieron cultivar el hongo comestible *P. ostreatus* CP-753 por sus características organolépticas. Por tal razón, se impartió el curso teórico-práctico del hongo seta a las personas interesadas, en la figura 1 se muestra el proceso de cultivo.

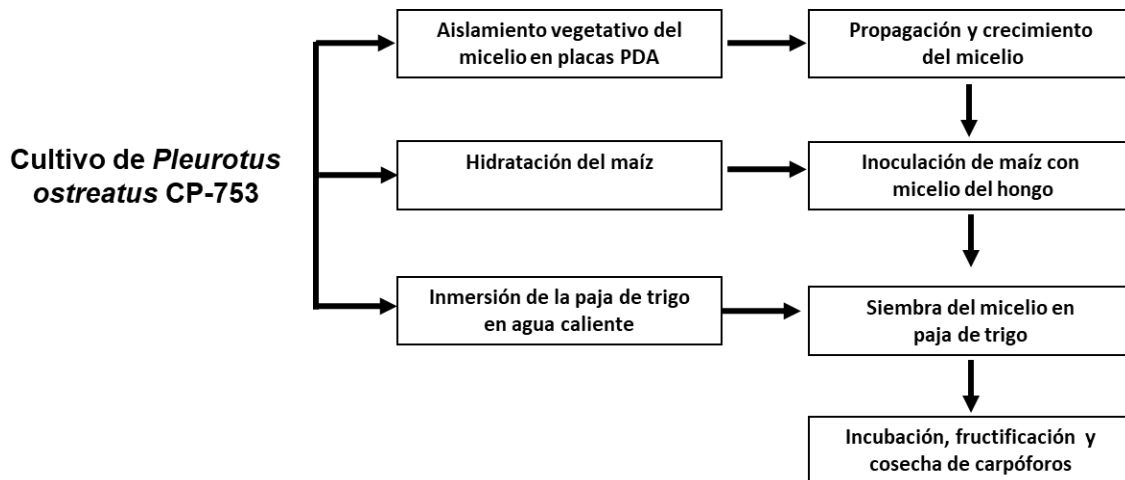


Figura 1. Producción del hongo seta

Por otra parte, con los datos obtenidos de las entrevistas y la revisión bibliográfica en enlaces de gobierno federal como el Consejo Estatal de Población del Estado de Puebla (COESPO), Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), Comité Estatal de información Estadística y Geográfica del Estado de Puebla (CEIGEP), Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal (INAFED), Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) y Servicio Meteorológico Nacional (SMN),

Secretaría de Desarrollo Social (SEDESOL), Consejo Nacional de Evaluación de la Política de Desarrollo Social (CONEVAL), se analizaron la información de los problemas ambientales, sociales y económicos del sitio de trabajo, a partir de estos datos se determinaron los puntos críticos. Para llevar a cabo el proceso anterior solo se consideraron algunos puntos de las herramientas metodológicas MESMIS y PRPC, adecuándolos a nuestro tema de investigación. Posteriormente se propusieron los indicadores sustentables de cada eje.

RESULTADOS

Los resultados encontrados con relación a la morfología colonial de la cepa *P. ostreatus* CP-753 se obtuvo un micelio radial, aéreo algodonoso de color blanco y con un borde regular. En cuanto a la aparición de primordios se dio en un periodo de tiempo de 38 a 41 días y se cosechó en intervalo de 42-45 días.

Con respecto a los resultados preliminares de la propuesta de indicadores hasta este momento se presentaron 9 en total; 3 ambientales, 3 sociales y 3 económicos. En la figura 2 se puede apreciar los problemas, puntos críticos e indicadores ambientales, sociales y económicos.

PROBLEMAS		PUNTOS CRÍTICOS	INDICADORES
AMBIENTAL I	<ul style="list-style-type: none"> Disminución de la cantidad y calidad de agua 	<ul style="list-style-type: none"> Disminución de la disponibilidad de agua 	<ul style="list-style-type: none"> Huella hídrica
AMBIENTAL II	<ul style="list-style-type: none"> Deterioro del suelo 	<ul style="list-style-type: none"> Degradación de suelo 	<ul style="list-style-type: none"> Perdida de la calidad de materia orgánica y diversidad vegetal-micológica en el suelo
AMBIENTAL III	<ul style="list-style-type: none"> Alteraciones de la precipitación y la temperatura 	<ul style="list-style-type: none"> Modificación de los periodos de lluvia y temperatura 	<ul style="list-style-type: none"> Registros pluviométricos
SOCIAL I	<ul style="list-style-type: none"> Población 	<ul style="list-style-type: none"> Enfermedades crónico-degenerativas Y desnutrición 	<ul style="list-style-type: none"> Pirámide poblacional
SOCIAL II	<ul style="list-style-type: none"> Sistema de salud insuficiente 	<ul style="list-style-type: none"> Falta de cobertura de salud 	<ul style="list-style-type: none"> Registros de cobertura de salud
SOCIAL III	<ul style="list-style-type: none"> Bajo nivel educativo 	<ul style="list-style-type: none"> Falta de nivel educativo 	<ul style="list-style-type: none"> Registro de nivel educativo básico, media superior y superior
ECONÓMICO I	<ul style="list-style-type: none"> Se conserva agricultura tradicional 	<ul style="list-style-type: none"> Sistemas productivos técnicamente atrasados y poco factibles. 	<ul style="list-style-type: none"> Superficies de invernaderos y especies cultivadas agrícolas
ECONÓMICO II	<ul style="list-style-type: none"> Bajos ingresos 	<ul style="list-style-type: none"> Falta de ingresos 	<ul style="list-style-type: none"> Incremento del ingreso familiar y Producto Interno Bruto
ECONÓMICO III	<ul style="list-style-type: none"> Crianza de ganadería tradicional 	<ul style="list-style-type: none"> Sistemas de producción ganadero técnicamente atrasados. 	<ul style="list-style-type: none"> Productividad ganadera

Figura 2. Listado de problemáticas, puntos críticos e indicadores para el componente ambiental, económico y ambiental

CONCLUSIONES

En la búsqueda de la cualidad de sustentable, y mantener a lo largo del tiempo, sin agotar sus recursos o perjudicar el medio ambiente, en ese sentido la capacidad que tiene una sociedad para hacer un uso consciente y responsable de sus recursos, sin agotarlos o exceder su capacidad de renovación, y sin comprometer el acceso a estos por parte de las generaciones futuras, un grupo de productores de San Félix, en el Municipio de Atlixco han decidido buscar y expresar sus añoranzas al ver que la diversidad de alimentos que consumían en el pasado han ido cambiando o se han

perdido, aunado esto a la pérdida de los recursos (naturales, energéticos, económicos, que disponían, perdiéndolos a un ritmo en el cual los agotemos y no produzcamos más se dedicaron en forma decidida a preguntarse que ha venido sucediendo, este primer acercamiento ha permitido mostrar de manera concisa una oportunidad para poder soslayar este presente.

En ese sentido se han abocado a entender que la sustentabilidad esta mediada por 3 ejes principales el económico, el social y el ambiental, para lo cual se vieron trabajando en conjunto a través de indicadores de sustentabilidad en estos ejes, proponiéndose por acuerdo aquellos que mejor se adecuaban a sus condiciones contextuales, y entendiendo las escalas y dimensiones abarcables de agroecosistema, tiempo, y ubicación.

Se concluye que los productos de San Félix en Atlixco, pueden con los medios, materias, y la maximización de esfuerzos, obtener si se aplican en el corto, mediano y largo plazo, los beneficios. Esto es, lograr, mediante un modelo consciente de desarrollo económico, un cierto nivel de bienestar social que brinde a toda la población la posibilidad de acceder a un buen nivel de vida y tener las mismas oportunidades. Con una administración eficiente y racional en el uso de los recursos naturales, sin por ello comprometer el equilibrio ecológico, de la microcuenca en la que se encuentra ubicada la comunidad, es necesario, la exploración constante de nuevas opciones agroecológicas, ya que se ha ido impactando el suelo por uso constante de monocultivos, y aunque el recurso suelo pretenda ser recuperado, a través de diferentes métodos, la pérdida de la diversidad causada por la deforestación ha hecho un hueco en la diversidad de especies comestibles. Este primer paso de adecuación y con un elevado costo de enseñanza aprendizaje también marca el inicio de una nueva forma de abordar el futuro cuya posibilidad se hará más positiva conforme se logre una mayor concientización y un mejor trabajo conjunto. En este sentido, considera que un medio ambiente saludable ofrece a una comunidad mayores posibilidades de desarrollo y bienestar económico y social, y entiende que la degradación de los recursos naturales atenta contra nuestra propia supervivencia y la de las demás especies.

BIBLIOGRAFÍA

1. Altieri, M.A. 1997. Agroecología. Bases científicas para una agricultura sustentable. Centro de Investigación, Educación y Desarrollo, Lima (CIED), Perú, pp. 339.
2. Altieri, M. (2002). *Agroecología: Bases científicas para una agricultura sustentable*. Brasilia, D. F.: Guaíba, RS Brasil, pp. 338.
3. Badii, M. H. (2004). Desarrollo sustentable: fundamentos, perspectivas y limitaciones (Sustainable development: fundamentals, prespectives and limitations). *Innovaciones de Negocios* 1(2), pp. 199–227.
4. Barros, L., Cruz, T., Baptista, P., Estevinho, L. M., y Ferreira, I. C. (2008). Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food and Chemical Toxicology*, 46(8), pp. 2742-2747.
5. Bautista Justo, M. (1997). Valor nutricio de tres cepas mexicanas de *Pleurotus ostreatus*. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey. N.L México, pp. 156.
6. Benavides Calvache, O. L., Cabrera Hidalgo, É. V., Villota Muñoz, A. O., y Perdomo, D. A. (2015). Ácidos grasos del hongo funcional *Pleurotus ostreatus* cultivado en residuos sólidos agroindustriales, Producción más limpia. 10(1), pp. 73-81.
7. Cano, E. A., y Romero, B. L. (2016). Valor económico, nutricional y medicinal de hongos comestibles silvestres. *Revista chilena de nutrición*, 43(1), pp. 75-80.
8. Castaño, D., Valencia, P., Murillo, E., Eras, J., y Méndez, J. (2007). Ácidos grasos sustituidos en especies vegetales tropicales y su relación con la actividad antioxidante. *Scientia et Técnica* 13(33), pp. 343-344.
9. Chang, S. T., y Miles, P. G. (1989). *The nutritional attributes and medicinal value of edible mushrooms. Edible mushrooms and their cultivation*, pp. 27-40.
10. Claverias, R. (2000). Metodología para construir indicadores de impacto. Boletín Agroecológico, 11 (67), pp. 1-19
11. Cohen, R., Persky, L., y Hadar, Y. (2002). Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 58(5), pp. 582-594.

12. Fennema, O. R. (2000). *Química de los Alimentos*. 2da. Edición Ed. Acribia Zaragoza, pp. 350.
13. Gaitán, R., Salmones, D., Pérez, R. y Mata, G. (2006). *Manual práctico del cultivo de setas. Aislamiento, siembra y producción*. Instituto de Ecología; A.C. Veracruz, México. pp. 37.
14. Ikekawa, T., (2001). Beneficial effects of edible and medicinal mushrooms on health care. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 3(4), pp. 291-298.
15. López-Ridaura, S., Maser, O y Astier, M. (2001). Evaluando la sostenibilidad de los sistemas agrícolas integrados: El marco MESMIS. *BOLETÍN DE ILEIA*, pp. 25-27.
16. Martínez-Carrera, D., Larqué-Saavedra, A., Aliphat, M., Aguilar, A., Bonilla, M., y Martínez, W. (2000). La biotecnología de hongos comestibles en la seguridad y soberanía alimentaria de México. *Colegio de Post Graduados en Ciencias Agrícolas, II Foro Nacional de Seguridad y soberanía alimentaria*. México.
17. Maser, O., Astier, M y López Ridaura, S, (1999). Sustentabilidad y manejo de recursos naturales: El marco de evaluación MESMIS. Mundi Prensa-GIRA-UNAM. México, pp. 109.
18. Miles, P. G., y Chang, S. T. (2004). *Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact*. CRC press, pp. 451.

LOS MICRONUTRIENTES Y SU EFECTO EN LA TOXICIDAD RENAL POR MERCURIO.

Carmen María Estefanía Hernández Mota, Leticia Guadalupe Navarro Moreno, David Cruz Victoriano, Jorge Conde Acevedo.

Universidad del Papaloapan, Campus Tuxtepec. Instituto de Química Aplicada. Circuito Central No 200 Colonia Parque Industrial, C.P 68308. Tuxtepec, Oaxaca. E mail: Lgnavarrom@hotmail.com.

RESUMEN

El mercurio es un elemento que ocasiona una serie de trastornos en los organismos vivos debido a sus propiedades químicas. Uno de los órganos que sufre los efectos de la presencia de mercurio es el riñón. En este órgano puede ocasionar daño oxidativo, inhibición de actividades enzimáticas y alteraciones celulares como el rompimiento de membranas. Se ha observado que los micronutrientes esenciales, entre ellos el zinc y el selenio pueden ayudar a disminuir los daños en otros órganos de animales expuestos a otros metales como el plomo y el cromo. En este trabajo se establecieron seis esquemas de intoxicación basados en tratamientos de prevención y competencia usando zinc y selenio. Para ello, los animales fueron intoxicados de forma oral con cloruro de mercurio y tratados mediante una serie de inyecciones de la siguiente manera: grupo 1 tratado con selenio al mismo tiempo que el mercurio; grupo 2 tratado con zinc al mismo tiempo que el mercurio; grupo 3 tratado con selenio y zinc al mismo tiempo que con mercurio; grupo 4 pre exposición a zinc con posterior intoxicación con mercurio; grupo 5 pre exposición a selenio con posterior intoxicación con mercurio y grupo 6 pre exposición a selenio y zinc con posterior tratamiento con mercurio. Se establecieron controles para los micronutrientes y un control normal sin exposición a ningún elemento. Las observaciones mostraron que el tratamiento en conjunto con los dos micronutrientes ya fuera de forma previa o al mismo tiempo pudieron disminuir la generación de especies reactivas de oxígeno, recuperar la actividad de algunas de las enzimas antioxidantes y normalizar la actividad de una enzima biomarcadora. De la misma manera se observó que los daños ocasionados sobre los procesos fisiológicos del riñón fueron re establecidos al emplear estos dos tratamientos.

INTRODUCCIÓN

El problema de la contaminación ambiental resulta ser multifactorial debido al gran número de factores que intervienen en el mismo. Dentro de ellos se encuentran los relacionados con el o los tóxicos que intervengan así como sus características físicas y químicas, la dosis a la cual los organismos sean expuestos, el tiempo de exposición, la vía de entrada y los fenómenos de biotransformación de los organismos expuestos. En relación con lo anterior, los factores relacionados con los organismos se encuentran la edad, el estado nutricional, el estado de salud, el sexo y su constitución genética.

El mercurio constituye uno de los metales pesados que ha ocasionado tragedias urbanas que se han recordado a lo largo del tiempo por la gravedad de las mismas. Uno de los ejemplos más mencionados es el relacionado con la intoxicación provocada en una población japonesa en donde los pobladores se intoxicaron con el metal debido al consumo de pescado contaminado con el metal. Se sabe que dicho fenómeno ocasionó muertes y consecuencias en los descendientes de las personas dañadas.

El mercurio produce intoxicación en los seres vivos. A este proceso se le conoce como hidrargaria y es ocasionado, cuando el mercurio, en cualquier estado de oxidación, entra a los organismos y ocasiona daño. Los efectos tóxicos de los compuestos de mercurio dependen de su naturaleza. Los compuestos orgánicos (principalmente el metilmercurio) pueden afectar riñones, hígado, sangre, epitelio intestinal y pulmones, mientras que las sales inorgánicas tienen sus efectos principalmente en hígado, sistema nervioso, epitelio intestinal, riñón (en donde se acumulan de manera preferencial) y músculo¹. En cualquiera de estos casos, el mercurio ocasiona daños debido a que puede interactuar con grupos sulfhidrilo (SH) de proteínas, con el glutatión, y algunos casos con proteínas ricas en azufre como las metalotioneínas. Lo anterior puede ocasionar que el contenido de grupos tiol disminuya trayendo como consecuencia un aumento en el estrés oxidativo debido al incremento de especies reactivas de oxígeno y la disminución de los sistemas antioxidantes que dependen de glutatión y enzimas que requieren grupos SH. El mercurio metálico y los vapores del metal son lipofílicos y por ello pueden atravesar las membranas acumulándose en varios órganos. De esta

manera son capaces de atravesar la barrera hematoencefálica y la placentaria ocasionando daños neuro y feto tóxicos².

Las vías de entrada de este elemento al organismo dependen de su naturaleza orgánica e inorgánica. En este trabajo se utilizó una sal de mercurio inorgánico, para el cual las vías de ingreso al organismo son tres: la primera es la respiratoria que es la más importante tanto para este compuesto como para el mercurio elemental. La segunda vía es la digestiva, en esta los compuestos inorgánicos resultan menos absorbidos que los compuestos orgánicos de mercurio. La tercera vía es la cutánea, misma que tiene poca importancia dentro del fenómeno de la intoxicación con mercurio. Una vez que el metal ha ingresado al organismo su distribución dependerá de sus características fisicoquímicas. Se sabe que el 50% del mercurio inorgánico absorbido se transporta por el plasma unido a la albúmina y que el equilibrio que se logra dentro del organismos es función de la dosis, la duración de la exposición, el grado de oxidación, la concentración en sangre, la concentración de grupos SH libres, su afinidad por compuestos celulares varios y de la velocidad de asociación/disociación del complejo mercurio-proteína.

En relación a los procesos normales de biotransformación del metal, no se ha reportado ninguno en seres humanos. Sin embargo en microorganismos y roedores se han detectado cuatro. El primero involucra la oxidación del mercurio metálico por la enzima Hidrógeno peróxido catalasa la cual se localiza en los peroxisomas de animales de laboratorio. El segundo es un proceso de reducción de mercurio en estado 2+ por la enzima Xantina oxidasa convirtiéndolo en mercurio 0; este proceso se ha encontrado en ratas y ratones. El tercer proceso se ha encontrado en hígados de ratas y consiste en la metilación de mercurio en estado 2+ a metilmercurio. Finalmente el cuarto mecanismo involucra la biotransformación, en hígado, del metilmercurio a mercurio 2+, también observado en ratas expuestas al metal.

En con la eliminación del metal se ha reportado que existen tres vías o compartimentos. El primero se conoce como central e involucra a todos los órganos menos al riñón y al hígado. Al segundo se le ha llamado periférico y se ha dividido en riñón (en donde se acumula por periodos largos) y en hígado (en donde se acumula por periodos cortos). Los procesos involucrados en hígado y riñón incluyen la filtración glomerular, la secreción biliar y la secreción intestinal. Finalmente el cuarto compartimento se da cuando existe un depósito antes de la salida del metal de organismo (orina, pelo, heces y uñas). La figura 1 muestra el modelo tóxico cinético por mercurio inorgánico³.

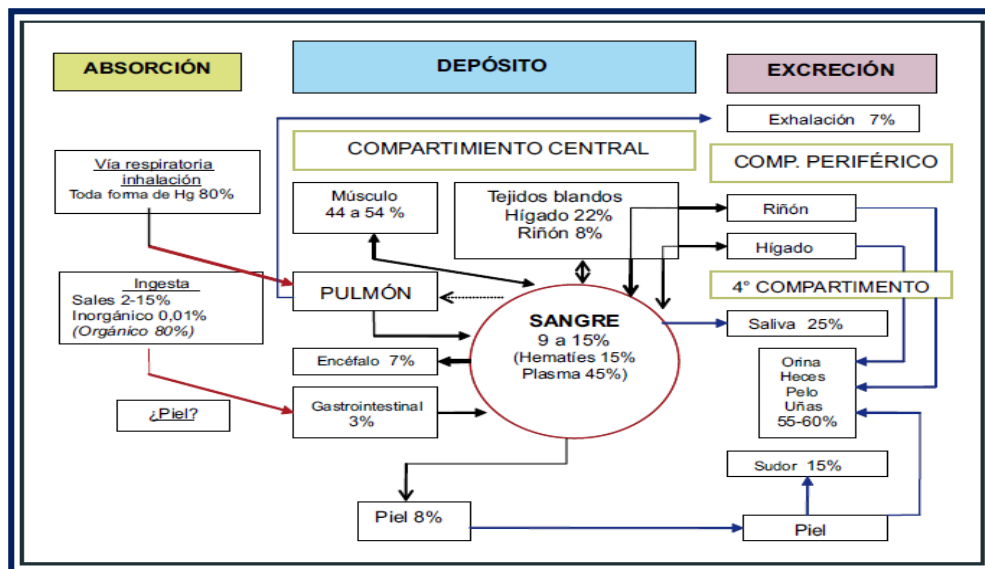


Figura 1. Modelo toxicocinético de la entrada de mercurio al organismo de mamíferos (Tomado de 3).

Hasta el momento no se ha reportado la existencia de mecanismos encargados de metabolizar al mercurio dentro de las células de los organismos eucariontes superiores (como los humanos), sin

embargo se ha reportado que en ratas y ratones el metilmercurio puede ser oxidado a mercurio inorgánico antes después de entrar a las células de los túbulos contorneados proximales. El mecanismo de esta conversión es desconocido⁴.

El efecto más importante de la entrada de mercurio a las células es su unión a las metalotioneínas. Estas moléculas tienen peso molecular bajo (6000 a 7000 Da) y contienen numerosos residuos de cisteína en donde se pueden unir metales como mercurio, cadmio, zinc, etc⁵. Cuando se expone a ratas de laboratorio a cloruro de mercurio o a vapores de mercurio la cantidad de metalotioneína se eleva, de manera preferencial en riñón. Se ha observado que, en este órgano, el vapor de mercurio puede ser convertido a mercurio inorgánico, el cual es el responsable de la inducción de la proteína. Este fenómeno involucra la transcripción de los genes MT-1 y MT-2 vía la interacción de factores de transcripción dependientes de zinc, así como elementos denominados “de respuesta a metal” que se encuentran en la región promotora de los genes de metalotioneínas⁶.

Tanto las formas orgánicas como inorgánicas tienen efectos también en el metabolismo del glutatión en los riñones. Al administrar concentraciones elevadas de mercurio, el nivel de glutatión intracelular disminuye hasta en un 85 % en ratas. Se ha observado que a concentraciones no tóxicas de mercurio el contenido de glutatión aumenta debido a la inducción de la enzima Gama-glutamylcisteína sintetasa. De igual manera dosis bajas de metal inducen la actividad de las enzimas Glutatión disulfuro reductasa y glutatión peroxidasa⁷.

La exposición a compuestos de mercurio también ocasiona estrés oxidativo. Lo anterior puede deberse a la unión del mercurio al glutatión, disminuyendo el contenido del mismo y disminuyendo la actividad de enzimas como Superóxido dismutasa, Catalasa, Glutatión peroxidasa y glutatión disulfuro reductasa en células renales⁸.

El mercurio inorgánico interfiere con la respiración mitocondrial ocasionando el aumento del peróxido de hidrógeno y con ello el fenómeno de estrés oxidativo. De la misma manera se ha demostrado que el mercurio ocasiona salida de calcio de la mitocondria, oxidación de nucleótidos de piridina y colapso del potencial de membrana^{9,10}.

Finalmente se ha demostrado que el mercurio puede ocasionar alteraciones en la ATPasa de sodio y potasio de la membrana basolateral de las células de túbulo proximal; inhibir las acuaporinas 1 a 6 presentes a lo largo de toda la nefrona¹¹; alterar el metabolismo del grupo HEMO ocasionando porfirinuria (Wood, *et. al*, 1990); inducir proteínas de estrés de 70 y 90 kDa de peso molecular. Estas proteínas podrían usarse como marcadores renales de intoxicación con el metal. También se han reportado proteínas de choque térmico de 65 y 70 kDa, en células de túbulo proximal, después de la administración de mercurio¹² y afectar la composición del citoesqueleto de células de túbulo proximal¹³.

Uso de elementos esenciales en la intoxicación con mercurio.

Se han llevado a cabo estudios sobre la importancia de algunos metales en el metabolismo celular, entre ellos se encuentran el magnesio, el cobre, el zinc y el selenio. La importancia de estos elementos radica en que participan como agentes activos formando parte de la estructura de moléculas como metaloenzimas o metaloproteínas. Entre las primeras se pueden mencionar a las enzimas que participan dentro del metabolismo antioxidante. El zinc, el magnesio y el cobre sirven de cofactores para la enzima Superóxido dismutasa y el selenio es cofactor de las enzimas Glutatión peroxidasa, Glutatión reductasa y Tio redoxina reductasa¹⁴.

Se ha establecido que el selenio y el mercurio actúan en el organismo antagonizando cada uno la actividad del otro. En el riñón, se ha reportado que la presencia de selenio puede reducir la cantidad de mercurio, sin embargo, la cantidad del metal pesado aumenta en el resto del organismo y de manera preferencial en el hígado. Esta relación presenta algunas desventajas como el hecho de que el selenio puede presentar propiedades pro oxidantes ocasionando la oxidación de los grupos tiol y generando superóxidos. De la misma manera el selenio puede afectar la vía urinaria de eliminación de mercurio. Se ha observado que el mercurio ocasiona modificaciones en la distribución del metal dentro del riñón. Se sabe también que ambos elementos forman asociaciones 1:1 pero sin embargo no se tiene bien estudiada la implicación de esta asociación^{14,15,16}.

Planteamiento del problema.

Debido a lo expresado en la sección anterior, el grupo de investigación que conforma el Cuerpo Académico “Aspectos Químicos y Bioquímicos de macromoléculas” ha planteado como una de sus Líneas de Generación de Conocimiento la denominada “Proteínas de estrés” dentro de la misma se

realizan estudios de los efectos que los agentes contaminantes (metales pesados) tienen dentro de los seres vivos (microorganismos y mamíferos como ratas de laboratorio y humanos). Muchos son los metales pesados que pueden ocasionar daño a los seres vivos, sin embargo se ha reportado que cuatro son los que más afectan todos los niveles de organización. El mercurio es uno de ellos y debido a sus características físicas y químicas su estudio se vuelve complicado ya que su toxicidad depende de su naturaleza química. La figura 2 muestra los diferentes niveles de organización de los organismos vivos mismo en los que un agente tóxico puede actuar los cuales comprenden desde el molecular hasta el organismo completo.

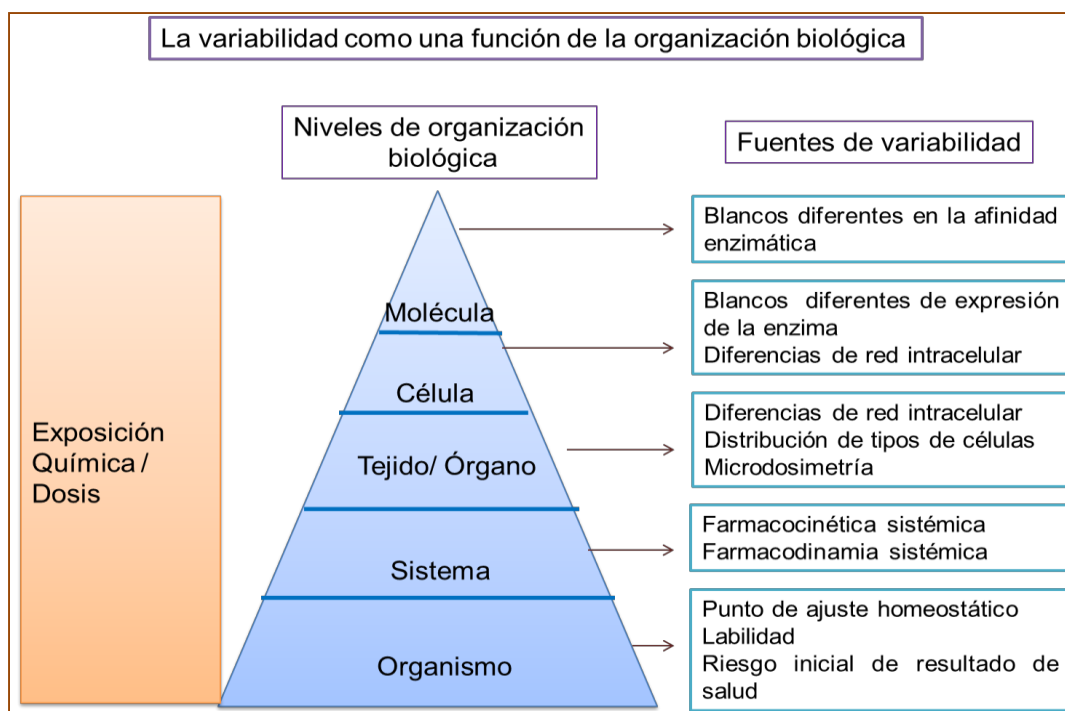


Figura 2. Niveles de organización biológica y exposición a agentes tóxicos. (Tomado de emerging science for environmental health decisions newsletter).

Uno de los órganos más dañado por la intoxicación debida al contacto con compuestos de mercurio es el riñón. En mercurio puede ejercer sus efectos a nivel molecular, celular, orgánico, sistemático y finalmente en los organismos completos. Dentro de las consecuencias de su mecanismo de daño se ha observado daño renal, neuronal, diferentes tipos de cáncer y muerte. Debido a su complejidad, la intoxicación con este metal no puede ser tratada de forma médica de la misma manera que otros tipos de enfermedades. Sin embargo, se han establecido posibles terapias para tratar de prevenir, combatir o restaurar los efectos reportados.

Entre estos, se encuentra el uso de micronutrientes ya que se sabe que éstos son capaces de competir con los metales pesados por lugares clave de acción de los mismos.

En este trabajo se muestran las evaluaciones llevadas a cabo del uso de selenio y zinc en los animales para estudiar su efecto antes de ser utilizados como posibles tratamientos para disminuir los efectos de la intoxicación con mercurio.

PARTE EXPERIMENTAL

Los animales utilizados en este estudio fueron ratas de la cepa Wistar macho que se agruparon en grupos de seis miembros y fueron alimentados con comida para roedores y agua normal o en su caso con una solución de cloruro de mercurio 2.5 mg/Kg. Tanto el selenio como el zinc fueron utilizados a una concentración también de 2,5 mg/Kg.. Los grupos fueron los siguientes.

Grupo control sin exponer a ningún micronutriente.

Grupo tratado con selenio durante 15 días vía intraperitoneal.

Grupo tratado con zinc durante 15 días, vía intraperitoneal.

Grupo 3 tratado con selenio y zinc al mismo tiempo, vía intraperitoneal.

Los animales fueron monitoreados en relación con su peso y el de sus órganos al inicio y al final de los periodos experimentales. Terminado el mismo fueron colocados en cajas metabólicas para recolectar muestras de orina. Finalmente se anestesiaron con pentobarbital sódico por vía intrapértoneal y se les extrajo el riñón y la muestra de sangre.

Se detrmirió la concentración de proteína por el método de Lowry, la generación de especies reactivas de oxígeno y la actividad de tres enzimas antioxidantes y de la enzima Glutación S-transferasa. De la misma manera se realizó un examen general de orina utilizando tiras reactivas a base de un código de colores.

RESULTADOS

Pesos corporales y de los órganos de los animales de estudio.

La tabla 1 muestra los pesos corporales de los animales al inicio y al final del tratamiento de experimentación. La tabla 2 muestra los pesos corporales de los animales al final del periodo de tratamiento.

Tabla 1. Pesos corporales de los roedores al inicio y al final de la experimentación (n=6).

GRUPO	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Diferencia de Diferencia de pesos (g)
Control	190.70 ± 7.95	192.83 ± 19.28	2.13
Selenio	246.6 ± 8.68	212.12 ± 21.55	-34.48
Zinc	245.3 ± 21.22	202.4 ± 49.33	-42.9
Selenio + Zinc	204.3 ± 6.10	189.2 ± 10.89	-15.1

Tabla 2. Peso de riñones y relación peso corporal peso de riñones (n=6).

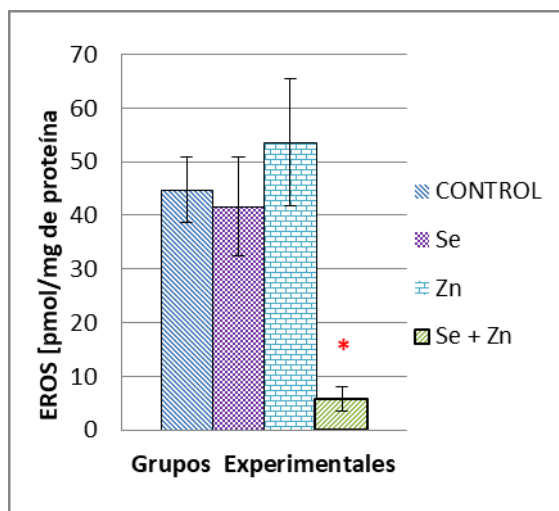
GRUPO	Peso final (g)	Relación peso corporal/peso de riñón
Control	1.9147 ± 0.14	100.7
Se	2.1045 ± 0.22	100.7
Zn	1.8566 ± 0.19	109.0
Se + Zn	1.8523 ± 0.14	102.14

La tabla 1 muestra que el efecto del tratamiento a base de selenio o zinc por separado ocasionó una disminución de peso de los animales de hasta casi 43 gramos, lo cual indica que por separado los metales, a esas dosis, provocaron cierta condición fisiológica que originó la pérdida de peso, sin embargo no se determinó si se trató de tejido graso o muscular. No obstante en el riñón la exposición a los metales por separado no ocasionó un efecto notorio. La combinación de ambos metales solo disminuyó en 15 gramos el peso de los animales al compararlos con el grupo control.

Especies reactivas de oxígeno.

La figura 1 muestra la generación de especies reactivas de oxígeno en homogenados de riñón de los grupos de estudios.

Figura 1. Generación de especies reactivas de oxígeno en riñón de animales control y expuestos a micronutrientes 8n=6).



En este caso se observó que los micronutrientes solos mantuvieron el mismo nivel de especies reactivas que el grupo control pero en el caso de los dos metales administrados al mismo tiempo, se observó una disminución bastante significativa de 40 unidades entre el grupo control y el tratado con los dos elementos. Lo anterior podría indicar que en el último caso las acciones antioxidantes de los dos elementos pudieron haberse sumado y por consiguiente lograr una disminución tan grande de especies reactivas.

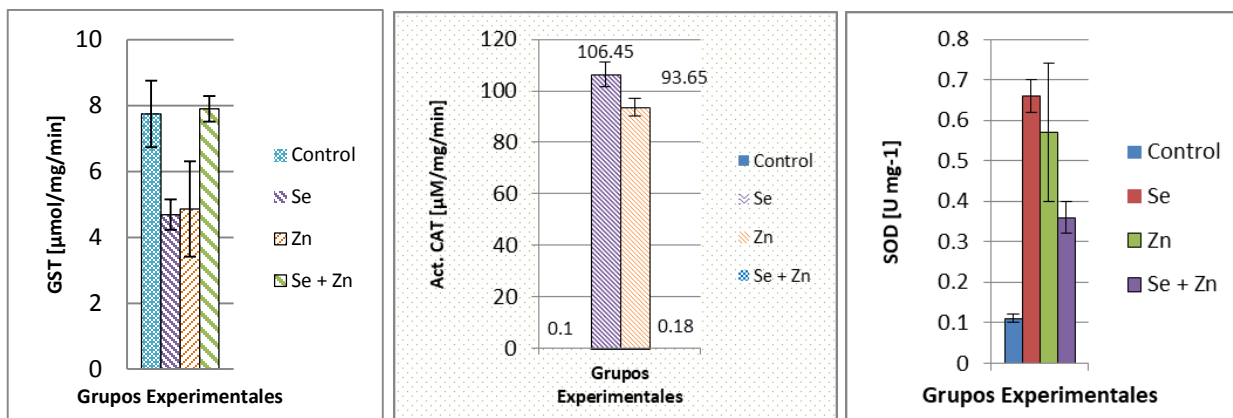
Actividad de las enzimas Catalasa, Superóxido dismutasa y Glutación S-transferasa.

Como siguiente paso se determinaron las actividades de dos enzimas antioxidantes la catalasa y la superoxidodismutasa, las cuales metabolizan dos de los iones conocidos como radicales libres: el peróxido de hidrógeno y el ion superóxido respectivamente. De la misma manera se evaluó la actividad de la enzima Glutación S-transferasa (GST) de la cual se ha encontrado una relación con metales como plomo y la generación de estrés oxidativo por lo que, en este grupo de investigación, se utiliza como una enzima marcadora de daño por exposición a metales. La figura 2 muestra la actividad de las tres enzimas en el riñón.

La actividad de la enzima GST demuestra que los micronutrientes administrados de forma separada ocasionan una disminución de la actividad de la enzima de aproximadamente el 40 % en relación con la actividad en el grupo control. Los animales tratados con los dos metales presentan la misma actividad que el grupo no expuesto a los microelementos.

En relación con las enzimas antioxidantes, se observó que la actividad de la enzima catalasa fue aumentada en el caso del tratamiento de los dos metales por separado de una manera significativa. En el caso de la exposición a los dos metales juntos, el nivel de actividad fue semejante al grupo control. Lo anterior sugiere que posiblemente, a estas concentraciones, los metales están ocasionando una elevada formación de peróxido de hidrógeno o podrían estar induciendo la actividad de la enzima. La actividad de la SOD en riñón se vio aumentada en los tres casos, al comparar las actividades con el grupo control. De forma similar al caso anterior, cuando se trataron a los animales con los micronutrientes por separado, la actividad de la enzima incrementó de forma predominante, sin embargo al tratar a los animales con los dos elementos al mismo tiempo la actividad aumentó menos que en los grupos anteriores. La explicación podría parecerse a la expresada en el caso de la enzima Catalasa.

Figura 2. Actividad de GST, CAT y SOD en riñón de ratas no tratadas y tratadas con los micronutrientes selenio y zinc (n=6).



Al determinar los daños renales mediante el examen general de orina, se observó que prácticamente no existieron en ninguno de los grupos estudiados. Lo anterior se puede asociar a la observación de los pesos de los órganos de los animales al final de los tratamientos en donde se observó que éste no se encontró alterado en ningún caso.

CONCLUSIONES

Para estudiar el fenómeno de la intoxicación con metales pesados es necesario llevar a cabo una serie de controles relacionados con el estudio de los diversos compuestos que se quieran administrar como posibles tratamientos de una intoxicación. En este trabajo se presentaron los estudios previos al establecimiento de un posible tratamiento para la intoxicación con mercurio.

En este trabajo se pudo ver que aun cuando la exposición a ambos micronutrientes ocasionó una disminución en la generación de especies reactivas de oxígeno comparado con el grupo control, es más factible utilizarlos como posibles tratamientos de manera conjunta ya que no ocasionan daños al riñón y tienen la capacidad de no alterar el desarrollo de los animales de manera tan drástica como lo hacen los micronutrientes por separado.

De la misma manera es posible que ambos metales al tener actividades antioxidantes y de inducción de enzimas puedan regularse uno al otro y de la misma manera hacerlo con un tóxico como por ejemplo el mercurio cuyo órgano blanco es el riñón.

Sin embargo se deben realizar más estudios tendientes a determinar concentraciones y tiempos de tratamiento adecuados para tener un mejor resultado a la hora de enfrentar a estos elementos con metales pesados como plomo y mercurio.

BIBLIOGRAFÍA

1. R. K. Zalips, "Molecular Interactions with Mercury in the Kidney", Am. Soc. Pharm. Exp. Therap., Vol 52,1, 2013, pp. 1-72.
2. R. H. D. Guan, "Chelation Therapy for Mercury Poisoning", Libretas Académica, 2009, pp. 1-100
3. A, V, Ramírez, "Intoxicación ocupacional por mercurio", An. Fac. Med., vol 69,1, 2008, pp. 46-51.
4. J. D. Dunn, T. W. Clarkson, "Does mercury exhalation signal demethylation of methylmercury?", Health. Phys., Vol 38, 1980, pp 411-414.
5. J. K. Piotrowski, J. M. Trojanowska-Knypi, W. Bolanowska, "Mercury binding in the kidney and liver of rats repeatedly exposed to mercury chloride", Toxicol. Appl. Pharmacol, Vol, 27, 1974, pp. 11-19.

6. J. D. Koropatnick, R. K. Zalups, "Effect to toxic and essential metals on cellular responsiveness to cell signals" in *Molecular Biology and Toxicology of Metals* (Zalups RK and Koropatnick DJ eds) Taylor and Francis, London, in press.
7. L. H. Lash, R. K. Zalups. "Mercuric chloride-induced cytotoxicity and compensatory hypertrophy in rat kidney proximal tubular cells". *J Pharmacol Exp Ther*, Vol. 261, 2000, pp. 819–829.
8. G. Gstraunthaler, W. Pfaller, P. Kotanko, "Glutathione depletion and *in vitro* lipid peroxidation in mercury or maleate-induced acute renal failure", *Biochem Pharmacol*, Vol. 32, 1993, pp.2969–2972.
9. E. Chavez, A. Holguin, "Mitochondrial calcium release induced by Hg²⁺", *J Biol Chem*, Vol.283, 1988, pp.3582–3587.
10. E. Chavez, C. Zazueta, A. Osornio, J. A Holguin, M. E. Miranda, "Protective behavior of captopril on Hg⁺⁺ induced toxicity on kidney mitochondria: In vivo and in vitro experiments", *J Pharmacol Exp Ther*, Vol. 256, 1991, pp.385–390.
11. A. S. Verkman, "Water channels in cell membranes", *Annu Rev Physiol*, Vol. 54, 1994, pp.97–108.
12. P. L. Goering, B. R. Fisher, P. P. Chaudhary, C. A. Dick, "Relationship between stress protein induction in rat kidney by mercuric chloride and nephrotoxicity", *Toxicol Appl Pharmacol* , Vol.113, 1992, pp.184–191.
13. K. Miura, M. Inokawa, N. Imura (1984) "Effects of methylmercury and some metal ions on microtubule networks in mouse glioma cells and in vitro tubulin polymerization", *Toxicol Appl Pharmacol*, Vol. 73, 1984, pp.218–231.
14. R. Agarwal, J. R. Behari, (2007). "Role of Selenium in Mercury Intoxication in Mice", *Industrial Health*, Vol. 45, 2007, pp. 388–395.
15. M. A. Cuvín-Aralar, W. R Lourdes y Furness, "Mercury and Selenium Interaction: A Review", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol, 21, 1991, pp. 348-364.
16. Su Li, Ming Wang, Shu-Ting Yin, Hui-Li Wang. Li Su, Liang Chen, Li-Guang Sun, Di-Yun Ruan, "The interaction of selenium and mercury in the accumulations and oxidative stress of rat tissues". *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol. 70, 2008, pp. 483–489.

IMPLEMENTACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA LA DETERMINACIÓN DE HIDROCARBUROS FRACCIÓN MEDIA E HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN AGUA POR CROMATOGRAFÍA DE GASES Y ESPECTROMETRÍA DE MASAS.

Víctor Hugo Robledo-Zacarías, Paulina Rodríguez-García, José Ismael Montelongo-Hernández, María de la Luz Vera-Yépez, Mónica Fabiola Beltrán-Ramírez y Moisés Antonio Zarrabal-Villalobos.

Centro de Innovación Aplicada en Tecnologías Competitivas, A.C.

Dirección de Servicios Tecnológicos, Laboratorio de Análisis Químicos, C.P. 37545, Omega 201, Industrial Delta, León, Guanajuato, e-mail: vrobledo@ciatec.mx.

RESUMEN

El petróleo forma parte de los compuestos con la mayor gama de usos en todo el mundo, sin embargo, la importancia de su determinación radica sobre los efectos en la salud del ser humano (cáncer principalmente) así como en ecosistemas afectados por los múltiples derrames de petróleo. Actualmente dichos derrames se encuentran regulados por la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012, abarcando únicamente suelos sin incluir matrices de agua, siendo la principal limitante en México los escasos métodos que permitan determinar concentraciones de hasta $\mu\text{g/mL}$. El presente trabajo describe la implementación del método para cuantificar Hidrocarburos Fracción Media (HFM), e Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP) en muestras de agua. El método consistió en 1L de muestra misma que se extrae por líquido-líquido empleando diclorometano, posteriormente es concentrado e inyectado a un cromatógrafo de gases, con detector de ionización de flama para HFM y un detector de Espectrometría de Masas para HAP, empleando estándares internos como correctores de matriz. La validación consistió en analizar muestras fortificadas a partir de materiales de referencia, determinando el intervalo lineal y de trabajo, límite de detección, límite práctico de cuantificación, precisión y exactitud. Los resultados demostraron límites de detección de $50\mu\text{g/mL}$ para HFM y $100\text{-}200\mu\text{g/mL}$ para HAP. El límite práctico de cuantificación fue de $100\mu\text{g/mL}$ para HFM y $0.5\mu\text{g/mL}$ para HAP. El intervalo de trabajo establecido fue de $100\text{-}5000\mu\text{g/mL}$ para HFM y $0.5\text{-}50\mu\text{g/mL}$ para HAP respectivamente. En cuanto a las calibraciones, se obtuvieron coeficientes de correlación superiores >0.99 . Los porcentajes de recuperación oscilaron en $80\text{-}120\%$ para todos los analitos. Respecto a la precisión, se determinó como repetibilidad, con $\text{CV}\% < 10$. Finalmente, los resultados demostraron confiabilidad con base a lo descrito por la AOAC/FAO/IAEA/IUPAC-2000, aportando una herramienta útil para establecer límites máximos permisibles que generen sustento científico en normativas nacionales y/o internacionales en materia de preservación ambiental.

Palabras clave: Hidrocarburos Fracción Media, Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos, extracción, cromatografía.

INTRODUCCIÓN

El petróleo es un compuesto orgánico formado por azufre, oxígeno, nitrógeno, metales y en su mayoría por hidrocarburos, los cuales están conformados por cadenas de carbonos e hidrógenos principalmente, que dependiendo de su estructura pueden agruparse en parafinas, oleofinas, naftenos y aromáticos. Actualmente, la importancia de su estudio radica principalmente en sus múltiples usos y aplicaciones, ya que conforman la primera fuente de energía en combustibles ya sea en estado sólido, líquido o gas. Con base a lo anterior, existen dos ramas de la industria química enfocadas a su estudio, siendo la petroquímica (encargada del estudio de los derivados del petróleo) y la carboquímica (estudia derivados del carbón), por lo que ambas ramas los clasifican de acuerdo a la estructura de los hidrocarburos, ya sea en alifáticos (saturados o insaturados), cíclicos y aromáticos conformados por más de dos anillos bencénicos (Aromocho Cortés & Oliverros Villamizar, 2000). Sin embargo, aun cuando dichos hidrocarburos tengan una amplia gama de usos y aplicaciones, la importancia eco toxicológica de su determinación radica sobre los efectos adversos en la salud del ser humano y medio ambiente generados por la exposición prolongada a dichos compuestos. Se han realizado investigaciones desde la década de los 70's, para determinar la causa potencial de cáncer en pacientes que se encontraban mayormente expuestos al hollín (Herr, 2011). Posteriormente, se confirmó dicha teoría cuando se observó que una gran cantidad de trabajadores presentaban diversos tipos de cáncer, mismos que se asociaban a la exposición de alquitrán, hulla o parafina. No obstante, fue a principios del siglo XX cuando L. Kennaway se dió a la tarea de

identificar y aislar los compuestos químicos que causaban dicho cáncer, concluyendo la posibilidad de pertenecer a hidrocarburos policíclicos (Rony, 2012). Con base a dichas publicaciones, se comenzaron a realizar investigaciones en todo el mundo para determinar el impacto ambiental, identificando y caracterizando ecosistemas afectados total o parcialmente por los múltiples derrames de petróleo y sus derivados, contaminando matrices tanto de suelo como de agua. A la fecha la Agencia Ambiental de Estados Unidos (EPA por sus siglas en inglés Environmental Protection Agency) clasifica a dichas sustancias como peligrosas debido a las propiedades cancerígenas y mutagénicas que algunos de los compuestos tienen y que afectan en gran medida la calidad de vida de los seres vivos (EPA, 2016). Algunos estudios realizados por el Comité de Protección Ambiental revelan que la mayor parte de la contaminación en agua y suelo son principalmente por diesel y aceites (Scholz Böttcher, et al., 2009).

Por lo anterior, desde hace algunos años México fortaleció el tema de las repercusiones que sufren los ecosistemas, al estar expuestos a fuentes de contaminación por hidrocarburos específicamente la industria petrolera, pues a pesar de representar ingresos altamente significativos a nivel mundial, se ha reconocido como una amenaza potencial a los ecosistemas si no se regula la manipulación, refinación o transporte. (Tang, et al., 2005) (Juárez, et al., 2002). Actualmente, en materia ambiental México se encuentra regulado por la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012, que establece los límites máximos permisibles de hidrocarburos únicamente en suelos, regulando estrictamente las diversas fracciones tanto ligera, media y fracción pesada. No obstante, dicha normativa no cuenta con el alcance para otro tipo de matrices ambientales como el agua, siendo la principal limitante los escasos métodos instrumentales de análisis en México. Así mismo, cualquier metodología implementada debe garantizar que se permitan determinar niveles de concentraciones relativamente bajos ($\mu\text{g/mL}$), con resultados confiables, precisos y exactos (SEMARNAT, 2012).

Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo de investigación es desarrollar e implementar una técnica analítica por cromatografía de gases acoplado a detectores de FID y MS, cuya capacidad de detección puede llegar hasta la magnitud de partes por billón con resultados estadísticamente confiables.

MATERIALES Y MÉTODOS

Extracción

El procesamiento de las muestras consistió en 1 litro de agua, empleando la técnica de extracción líquido-líquido por agitación manual con 100 mL de diclorometano (Tedia grado HPLC), mediante embudos de separación con capacidad de 2 litros, la agitación se efectuó en un lapso de 2 minutos por triplicado. Una vez separadas las fases se recolectó la orgánica en un sistema Kuderna-Danish, los extractos se concentraron a un volumen de 10 mL en un sistema de evaporación rotatorio marca Heidolph modelo G3 Heivap Precision a una temperatura de 40 °C y 120 rpm. Posteriormente se concentraron en un evaporador con corriente de Nitrógeno marca Horizon Technology modelo XcelVap con condiciones de temperatura y presión controladas hasta obtener un volumen final de 1 mL, finalmente el extracto se transfirió a viales ámbar de 2 mL (11 mm) marca Agilent hasta su análisis cromatográfico.

Hidrocarburos fracción media

El análisis se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases acoplado a un detector de Ionización de Flama (CG-DIF) Agilent modelo 7890 B utilizando una columna capilar HP-1 MS Agilent de 30 m de longitud, 0,25 mm de diámetro interno y 0,25 μm de grosor de película. Las condiciones cromatográficas se lograron con una rampa de temperatura que comenzó con un isoterma de 1 min a 45 °C, posteriormente se incrementó 10 °C/min hasta 180 °C por 1 minuto y nuevamente un incremento de 12 °C/min hasta llegar a 280°C por 7 minutos. Las inyecciones se realizaron con split, el gas portador utilizado fue: Helio con una velocidad de 34,36 cm/s y un flujo de 1,5 mL/min. El análisis cuantitativo se realizó mediante el software Chem Station por la técnica de estándar externo por integración de suma de áreas en el intervalo de tiempos de retención de C_{10} a C_{28} . Para establecer y verificar los tiempos de retención se efectúa un reporte de cuantificación con respecto a la curva de calibración vigente, preparada con un material de referencia verificado, Diesel Range Organics Mix concentración de 2000 $\mu\text{g/mL}$ marca RESTEK.

Hidrocarburos aromáticos policíclicos

El análisis se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas (CG-MS) Agilent modelo 7890 A utilizando una columna capilar OV-5MS marca Ohio Valley Specialty de 30 m de longitud, 0,25 mm de diámetro interno y 0,50 μm de grosor de película. Las condiciones cromatográficas emplearon una rampa de temperatura que comenzó con un isoterma de 3 min a 60 °C, posteriormente se incrementó 10°C/min hasta alcanzar 190 °C por 2 minutos y 15°C/min hasta llegar a 290 °C por 15 minutos. La inyección fue por split pulsado, el gas portador utilizado fue: Helio con una velocidad de 45,15 cm/s y un flujo de 1,5 mL/min. La identificación de analitos de interés se realizó comparando los espectros de masas contra los espectros de los materiales de referencia. Para el análisis cuantitativo se empleó el software Chem Station utilizando los siguientes estándares internos (1,4-diclorobenceno-d4, Naftaleno-d8, Acenafteno-d10, Fenantreno-d10, Criseno-d12 y Perileno-d12) como correctores de matriz comparando las respuestas de los iones principales determinados en las muestras, contra los iones de cada compuesto en los materiales de referencia.

Validación de la metodología

Para validar ambas metodologías analíticas, se establecieron diversos parámetros importantes que definen el desempeño y confiabilidad de los resultados, mediante diversas muestras de agua fortificadas a concentración conocida a partir de materiales de referencia trazables. Los parámetros a determinar fueron los siguientes:

- Límite de detección
- Límite práctico de cuantificación
- Linealidad
- Intervalo de trabajo
- Recobro
- Exactitud en condiciones de reproducibilidad
- Precisión en condiciones de repetibilidad
- Controles de calidad entre análisis, tanto instrumentales como analíticos, tales como blancos electrónicos, de disolvente, de método para descartar posibles interferencias que provengan del material o reactivos utilizados, así como verificación de curva, asegurando la estabilidad de la curva de calibración, muestras control y muestras control duplicadas para determinar efectos de recobro asociadas a efectos de la matriz.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos de la validación del método se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Parámetros implementados para la metodología analítica.

Matriz Parámetro de validación	Agua Método	
	HFM	HAP*
Límite de detección	50 $\mu\text{g/mL}$	100-200 $\mu\text{g/mL}$
Límite práctico de cuantificación	100 $\mu\text{g/mL}$	0,5 $\mu\text{g/mL}$
Intervalo de trabajo	100-5000 $\mu\text{g/mL}$	0,5-50 $\mu\text{g/mL}$
Coefficientes de correlación de curva de calibración	< 0,99	< 0,99
	Exactitud	
% Recuperación	80-120%	80-120%
	Precisión	
%RSD	2,04	>10%

*Los analitos evaluados para HAP fueron: Naftaleno, Acenaftileno, Acenafteno, Fluoreno, Fenantreno, Antraceno, Fluoranteno, Pireno, Benzo (a) antraceno, Criseno, Benzo (b) fluoranteno, Benzo (k) fluoranteno, Benzo (a) pireno, Indenol (1,2,3-cd) pireno, Dibenzo (a,h) antraceno, Benzo (g,h,i) perileno.

Los resultados obtenidos demostraron límites de detección de 50 $\mu\text{g/mL}$ para HFM y 100-200 $\mu\text{g/mL}$ para HAP. El límite práctico de cuantificación fue de 100 $\mu\text{g/mL}$ para HFM y 0.5 $\mu\text{g/mL}$ para HAP. El

intervalo de trabajo establecido fue de 100 a 5000 $\mu\text{g/mL}$ para HFM y 0,5 a 50 $\mu\text{g/mL}$ para HAP respectivamente. En cuanto a las curvas de calibración empleadas, se obtuvieron coeficientes de correlación superiores a 0,99 tanto para HAP como para HFM.

Respecto a la exactitud se evaluó en condiciones de % de recuperación, los cuales se encontraron entre los criterios de aceptación de 80-120%. La precisión se determinó en condiciones de repetibilidad, empleando un análisis de varianza (ANOVA), con un análisis estadístico de F de Fisher, con la cual se demuestra que la variación en las mediciones no es significativa, demostrando la precisión del método con coeficientes de variación menores al 10%, valor que se considera aceptable con base a la AOAC/FAO/IAEA/IUPAC.

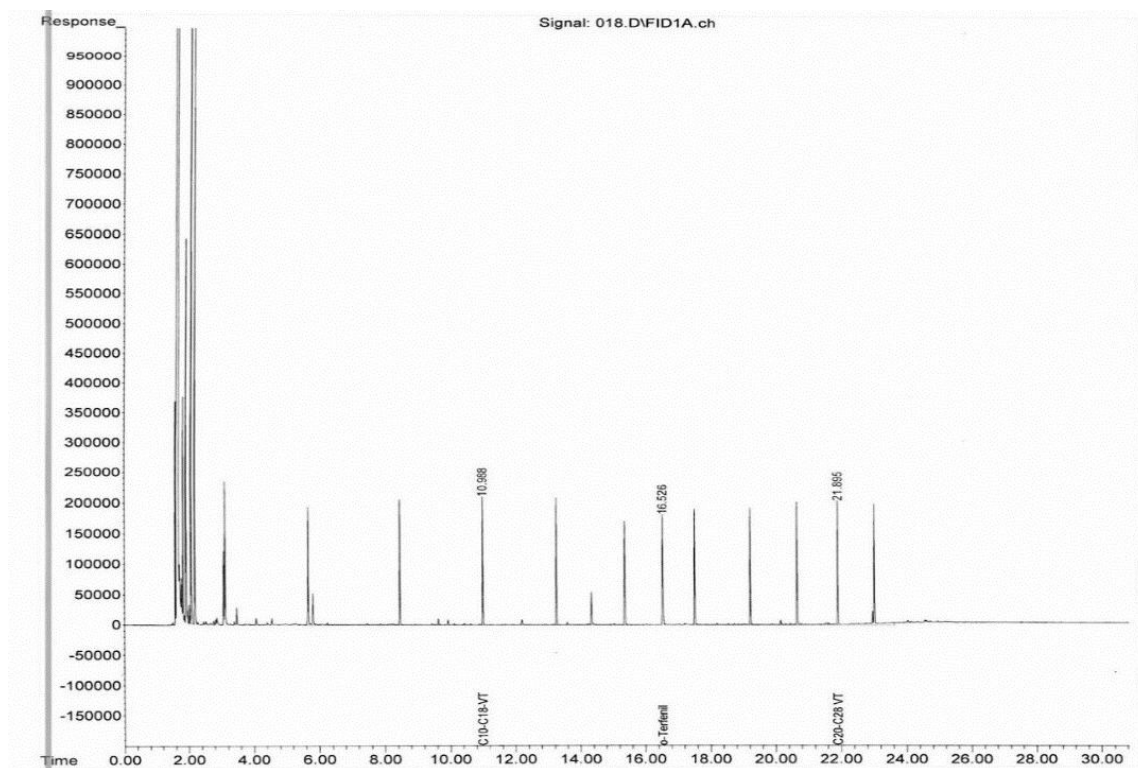


Figura 3. Cromatograma obtenido de una muestra control en el análisis de Hidrocarburos Fracción Media (HFM).

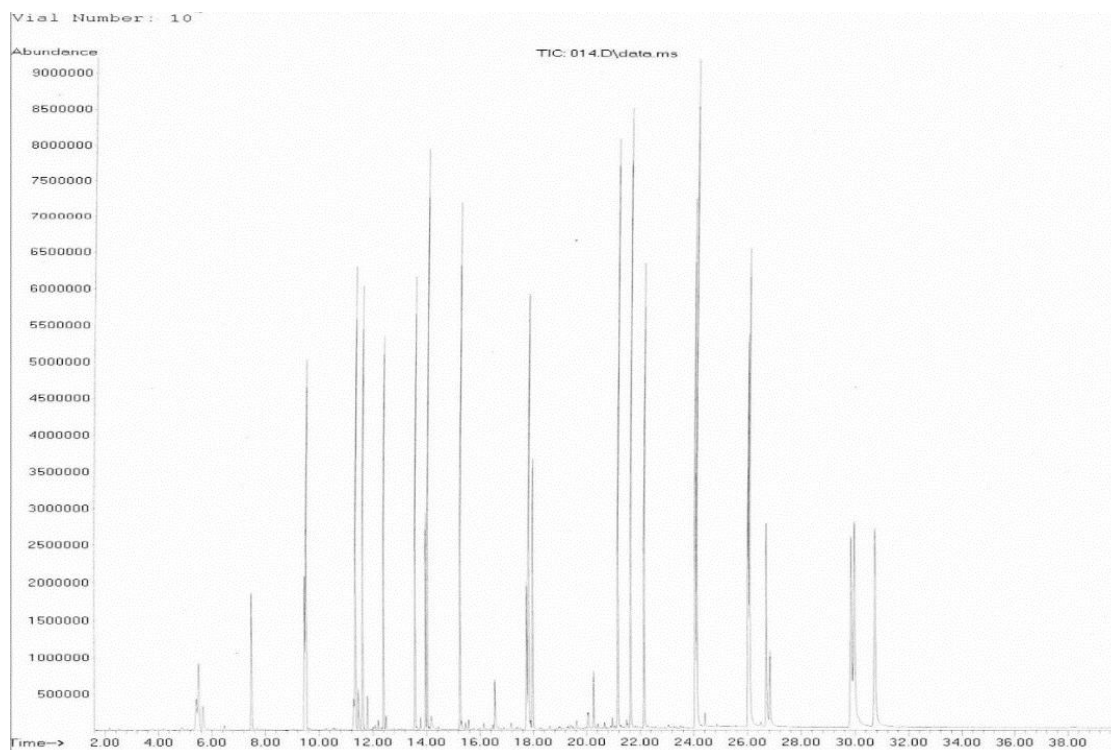


Figura 4. Cromatograma obtenido de una muestra control en el análisis de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP).

Respecto a las muestras caso, todas las corridas analíticas cumplieron con los criterios de aceptación de %CV menores al 10, y % Desviación Estándar menores al 15. Los resultados demostraron ser reproducibles precisos y exactos para el monitoreo de HFM y HAP en muestras problema, tal como se detalla en la Tabla 2.

Para demostrar la eficiencia del método analítico en muestras reales (Tabla 2), se tomaron alícuotas de aguas superficiales con supuesta contaminación por derrames de hidrocarburos de diversas zonas del estado de San Luis Potosí, México. El análisis demostró la presencia de hidrocarburos fracción media en dos de los casos analizados, en concentraciones superiores a los 277 $\mu\text{g/mL}$. Dicha información ofrece una herramienta útil y confiable para el monitoreo, recurrencia y tratamiento de aguas superficiales y subterráneas.

Tabla 2 Resultados de muestras caso obtenidas de zonas de contaminación por derrames de hidrocarburos del estado de San Luis Potosí, México.

Matriz	Agua	
	Compuesto ($\mu\text{g/mL}$)	
Muestras	HFM	HAP
Caso 1	298,91	N.D.
Caso 2	N.D.	N.D.
Caso 3	N.D.	N.D.
Caso 4	277,07	N.D.
Caso 5	N.D.	N.D.

CONCLUSIÓN

El método implementado demostró ser reproducible, preciso y exacto para el análisis de muestras en el monitoreo de Hidrocarburos Fracción Media e Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en

muestras de agua, aportando una herramienta útil para establecer límites máximos permisibles en matrices medioambientales, generando sustento científico para complementar las normativas nacionales y/o internacionales en materia de contaminación y preservación ambiental.

REFERENCIAS

1. Amorocho Cortés , E. & Oliverros Villamizar, G., 2000. *Apuntes sobre Energía y Recursos Energéticos*. Primera ed. Bucaramanga: Universidad Autónoma de Bucaramanga.
2. Azevedo , D. d. A. & Gerchon, E., 2004. Monitoring of Pesticides and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water from Paraíba do Sul River, Brazil. *J. Braz. Chem. Soc.*, 15(2), pp. 292-299.
3. Campo, L., Fustiononi, S. & Bertazzi, P., 2011. Quantification of carcinogenic 4- to 6- ring polycyclic aromatic hydrocarbons in human urine by solid-phase microextraction gas chromatography-isotope dilution mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, Volumen 401, pp. 625-634.
4. Herr, H. W., 2011. Percival Pott and Scrotal Cancer. *BJU International*, pp. 479-481.
5. Juárez, P. M. y otros, 2002. Cuticular Hydrocarbons of Chagas Disease Vectors in Mexico. *Hydrocarbons of Mexican Triatominae*, 97(6), pp. 819-827.
6. Rodríguez Vázquez, R., Sánchez, S., Mena- Espino, X. & Amezcua Allieri, M., 2016. Identification of the medicinal plant species with the potential for remediation of hydrocarbons contaminated soils. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(23).
7. Rony, A., 2012. From Pathology to Chemistry and Back: James W. Cok and Early Chemical Carcinogenesis Research. *Ambix*, 59(2), pp. 152-169.
8. Scholz Böttcher, B. M., Ahlf, S., Vázquez Gutiérrez, F. & Rullkötter, J., 2009. Natural vs. anthropogenic sources of hydrocarbons as revealed through biomarker analysis: A case study in the southern Gulf of Mexico. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, 61(1), pp. 47-56.
9. Secretaría de Economía, 2008. *NMX-AA-145-SCFI-2008 Suelos-Hidrocarburos Fracción Media por Cromatografía de Gases con Detector de Ionización de Flama-Método de Prueba*. s.l.:Norma Mexicana.
10. Secretaría de Economía, 2008. *NMX-AA-146-SCFI-2008*. s.l.:Norma Mexicana.
11. SEMARNAT, 2012. *NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012, Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y lineamientos para el muestreo en la caracterización y especificaciones para la remediación*. s.l.:s.n.
12. Tang, N. y otros, 2005. Polycyclic aromatic hydrocarbons and nitropolycyclic aromatic hydrocarbons in urban air particulates and their relationship to emission sources in the Pan-Japan Sea countries. *Atmospheric Environment*, Volumen 39, pp. 5817-5826.

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE COMPUESTOS DE COORDINACIÓN DE ÁCIDO CARMÍNICO CON DIFERENTES IONES METÁLICOS DE TRANSICIÓN

Karen Morales Gutiérrez, Ismael Soto López, Lidia Meléndez Balbuena, Mónica Cruz Hernández, Nereida Solano Ramírez, Alejandra Castro Lino y Guadalupe López Olivares

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

RESUMEN

El ácido carmínico se obtiene de la cochinilla que es un insecto presente en los nopales, en su organismo contiene el carmín que es un compuesto que forma el ácido carmínico ligándose también con compuestos proteicos. Es una sustancia química formada por una antraquinona polihidroxilada con una terminal carboxílica y un enlace glucosídico con una d-glucopiranososa que les confieren la propiedad de solubilidad en agua y son capaces de formar puentes de hidrógeno con agua o con otros disolventes orgánicos polares.

Se pesan las sales metálicas y se ponen a calentar en la parrilla en 15 ml de agua desionizada hasta alcanzar una temperatura de 50°C, se agrega la sal metálica y se agita con una barra magnética para homogeneizar la muestra.

Se le agrega 0.005 gramos de ácido carmínico y se eleva la temperatura de 75 a 80 °C durante 15 minutos manteniendo la agitación constante. Se deja reposar durante 8 horas a temperatura ambiente, posteriormente se pasa a una estufa para su secado por 24 horas a 45 °C para la caracterización por espectroscopia UV- Visible, Infrarroja, Difracción de rayos X. Se obtuvieron bandas alrededor del 495 nm correspondientes a los iones metálicos coordinados. En IR se identifican las bandas características que pudieran sugerir el enlace metal-ligando y se corrobora con RMN y Difracción de rayos X.

La facilidad del ácido carmínico para formar compuestos con diferentes sales metálicas será aprovechada en este trabajo para la síntesis de compuestos coloreados que pudieran tener aplicación en las industrias alimentaria, farmacéutica, cosmética, textil, etc.

INTRODUCCION

En la época precortesiana, la grana fina era llamada por los aztecas *nocheztli*, palabra que quiere decir "sangre de tunas". La escritura y dibujo en murales y en papel amate son ejemplos del uso de este colorante ⁽²⁾. La cerámica y textiles del periodo postclásico (900-1521 de nuestra era) también fueron teñidos con grana. En la época colonial los españoles tomaron el control de la producción de la grana del carmín, manteniéndola como el tercer producto de exportación de México, sólo superado por el oro y la plata.

Los españoles, aprovechando que el pigmento se obtiene de las hembras adultas secas del insecto, las cuales parecen semillas y son resistentes como éstas, las exportaron a Europa y, para ocultar el origen del producto y conservar el monopolio, decían que eran productos vegetales, lo cual también dio lugar al uso de frases como sembrar, cosechar, etc, para referirse a las actividades del cultivo, palabras que aún se conservan ⁽³⁾. Fueron los mismos españoles, en el siglo XVI, quienes llevaron pencas infestadas de grana fina de la Nueva España a las Islas Canarias para producir pigmento y abastecer el enorme mercado europeo. Cabe mencionar, como ejemplo, del extenso uso de la grana en ese tiempo para los uniformes del ejército inglés, las famosas "casacas rojas", que se teñían con este pigmento.

Más adelante, durante la guerra de Independencia de México, los primeros ejércitos libertadores operaron en zonas productoras de grana, como los estados de Jalisco, Oaxaca y San Luis Potosí. Cuando el ejército insurgente, comandado por Morelos, ocupó la ciudad de Oaxaca, el principal producto tomado en el saqueo fue la grana. Con el dinero que proporcionó esta grana, Morelos pudo equipar su ejército para continuar con la guerra. Al paso del tiempo, ya cercana la Independencia, los ricos comerciantes graneros (productores de grana) se pusieron a la orden del ejército insurgente, con el propósito de no verse despojados de sus riquezas.



Figura 1. Recolección de la grana por un indígena durante la Colonia.

Actualmente sólo en los estados de Oaxaca, Morelos y Jalisco se dedican algunas parcelas para la producción de cochinilla fina en pequeña escala, con fines principalmente artesanales.

El carmín es utilizado como colorante natural de tonalidades rojo púrpura en las industrias alimenticia (en embutidos cuando se utiliza carne de cerdo y para teñir tripas), cosmética (en labiales, polvos faciales, lápices para ojos, etc) y farmacéutica (en preparación de grageas y tabletas) ⁽⁶⁾.

El ácido carmínico $C_{22}H_{20}O_{13}$ es una antraquinona polihidroxiada con resto carboxílico, enlace glucosídico con una d-glucopiranososa, gran cantidad de grupos hidroxilos ⁽¹⁾. El grupo carboxílico y los cuatro grupos fenólicos, de las posiciones C-3, C-5, C-6 y C-8 desprotonables, contribuyen a los cambios de color y de pH, su estructura química se observa en la figura 2:

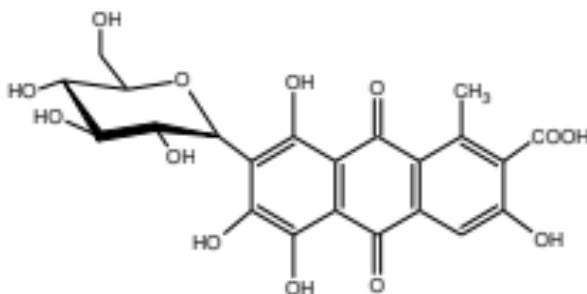


Figura 2. Estructura del ácido carmínico.

Es una sustancia química compleja utilizada como colorante rojo, tiene ciertas propiedades, entre ellas: es soluble en agua, alcohol, ácido sulfúrico concentrado y soluciones básicas, es poco soluble en éter etílico, pero nada soluble en éter de petróleo, benceno y cloroformo ⁽⁴⁾.

Una de las muchas propiedades que tiene, es el de cristalizar con etanol, toman forma de prismas, con un color rojo brillante que pueden oscurecerse con 120°C y descomponerse con 250°C.

El ácido carmínico tiene distintos nombres según las denominaciones ⁽⁴⁾:

Denominaciones	Nombre
Nombre común	Ácido Carmínico
Sistemático	Ácido 7- α -D-glucopiranosil-9, 10-dihidro-3, 5, 6, 8-tetrahidroxi-1-metil-9, 10-dioxi-2-antraceno carboxílico
CEE Número/Denominación	E-120- Rojo Cochinilla
CI Número/ Denominación	75470- Rojo Natural No. 4

Tabla 1. Nombres del ácido carmínico según las denominaciones ⁽⁴⁾

La facilidad del ácido carmínico para formar complejos con metales es explotada en la manufactura de carmines, el carmín procesado y adquiere diferentes coloraciones dependiendo de la sal metálica a la que este unido, ejemplos de estos se muestra en la tabla 2.

Sal metálica	Color obtenido
Aluminio	Escarlata
Alumbre	Carmesí
Bario	Violeta mate
Cromo	Purpura
Fierro	Rojo grisáceo
Magnesio	Rosado
Mercurio	Escarlata
Plomo	Rojo parduzco
Uranio	Verde
Sodio	Rojo
Zinc	Carmesí

Tabla 2. Coloraciones adquiridas por el carmín dependiendo de la sal metálica utilizada. ⁽⁵⁾

OBJETIVO

En el presente trabajo se pretende sintetizar y caracterizar compuestos de coordinación con diferentes elementos de transición.

PARTE EXPERIMENTAL

Para la síntesis y elaboración de los colorantes a base de ácido carmínico se necesita de un vaso de precipitados que se calienta en una parrilla con 15 ml de agua desionizada a 50°C, para posteriormente agregar una de las sales ya sea cloruro de cobre (II), nitrato de bismuto (III), cloruro de mercurio (II), dónde la mezcla tiene que estar en agitación para una homogenización uniforme, una vez disuelta se agrega el ácido carmínico poco a poco, enseguida de ello se eleva la temperatura de 75 a 80° C aproximadamente por 15 minutos más, después de este tiempo se detiene la reacción y se deja reposar por 8 horas a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo se trata con temperatura en una estufa a 45° C por 24 horas esto con la finalidad de evaporar el disolvente y secar la muestra, para su posterior caracterización.

RESULTADOS

Los resultados conseguidos y observados hasta ahora con las diferentes sales metálicas es que al reaccionar con el ácido carmínico dieron colores que van desde el naranja, violeta y morado para el cloruro de mercurio (II) , nitrato de bismuto (III), cloruro de cobre (II), respectivamente como se muestra en la siguiente figura.



Figura 2. Colores obtenidos con las diferentes sales metálicas

Caracterización por Ultravioleta- Visible

Se utilizó Uv-Vis como una prueba de caracterización de los productos obtenidos de los que se tienen los siguientes espectros. Para el caso del cloruro de cobre (II) se observa una absorción máxima a 485 nm (figura 5), mientras que para el nitrato de bismuto (II) se aprecia una absorción máxima a 570 nm (figura 3) y para el cloruro de mercurio (II) se presenta dicha absorción a 495 nm (figura 4). En los espectros se puede ver como varía la absorbancia al variar la longitud de onda, lo que nos indica que cada sustancia tiene una absorción única y definida, y que el enlace del ácido carmínico con los distintos metales se está llevando a cabo, esto se puede percibir con la diferente tonalidad en la coloración que van desde naranja, violeta y morado.

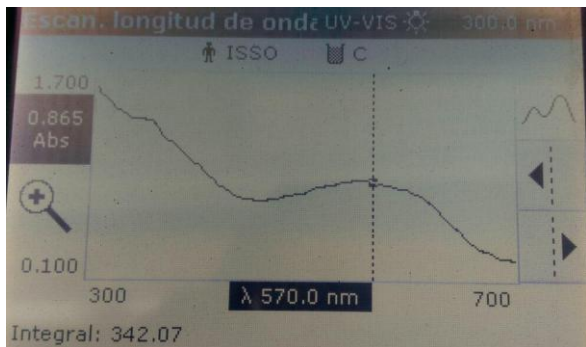


Figura 3. Espectro de UV-Vis de ácido carmínico con nitrato de bismuto,

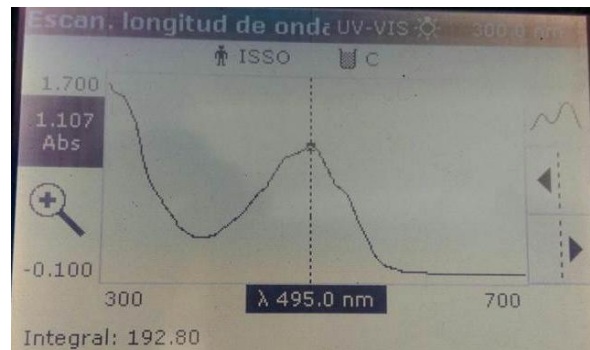


Figura 4. Espectro de UV-Vis de ácido carmínico con cloruro de mercurio.

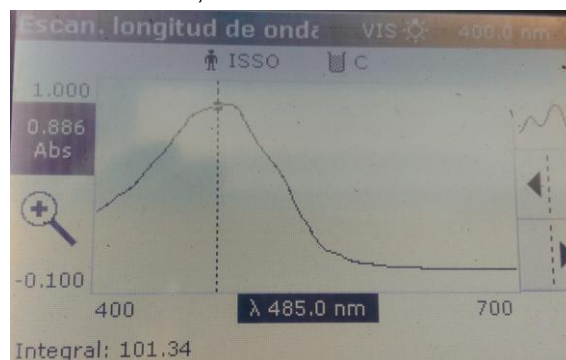


Figura 5. Espectro de UV-Vis de ácido carmínico con cloruro de cobre

Caracterización por Infrarrojo

Para comprobar la presencia del ácido carmínico en los productos obtenidos se hizo uso de la espectroscopia infrarroja para observar las bandas de adsorción características de los grupos funcionales. Los cuales presentan vibraciones en el infrarrojo como: hidroxilo, cetona, carbono doble enlace carbono y el enlace metálico.

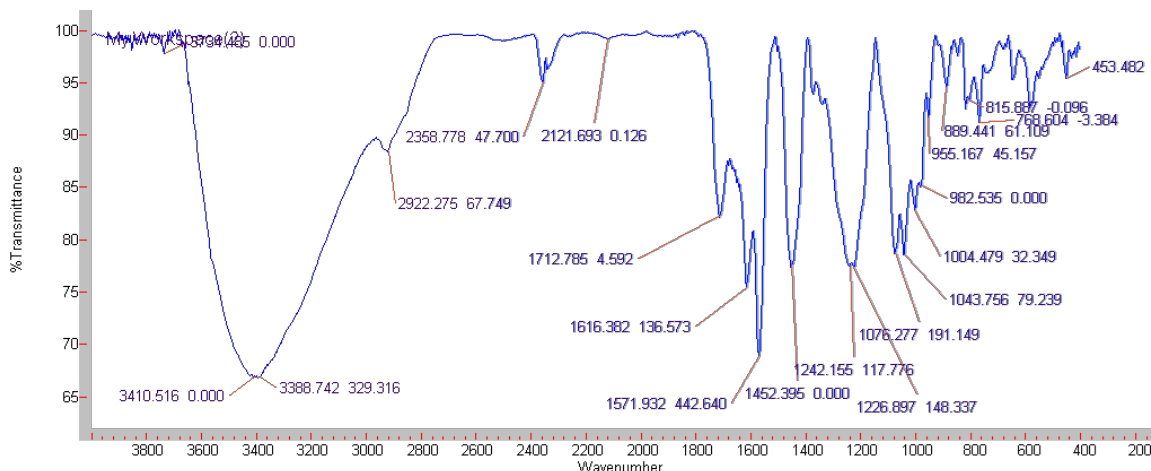


Figura 6. Espectro de Infrarrojo de ácido carmínico con nitrato de bismuto

El espectro de IR de la figura 6 es de la muestra con nitrato de bismuto, presenta las bandas correspondientes al grupo -OH en aproximadamente 3410 cm^{-1} de las vibraciones de los grupos fenólicos y carboxílico, las bandas de 1616 y 1571 cm^{-1} son del modo vibracional C=C de los dobles enlaces antraquinónicos, mientras que la señal que aparece en 1712 cm^{-1} del enlace C=O de los grupos cetos aromáticos y el pico en 815 cm^{-1} corresponde al enlace metal-ácido.

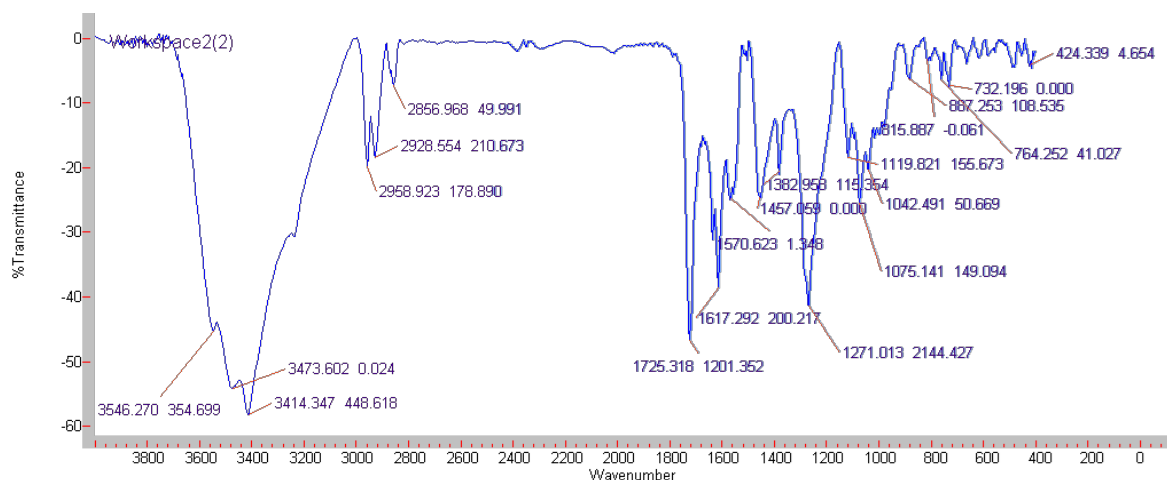


Figura 7. Espectro de Infrarrojo de ácido carmínico con cloruro de mercurio

Para el compuesto con cloruro de mercurio el espectro de Infrarrojo corresponde a la figura 7, muestra las bandas pertenecientes al grupo -OH aproximadamente en 3414 cm^{-1} y se atribuyen a vibraciones de los grupos -OH de los grupos fenólicos y del ácido carboxílico. Las bandas que aparecen en 1617 y 1550 cm^{-1} son del modo vibracional de C=C que corresponden a los dobles enlaces de la antraquinona, mientras que la banda que aparece en 1725 cm^{-1} es atribuida al enlace C=O de los grupos cetónicos aromáticos presentes en la estructura del ácido carmínico y la banda que se encuentra en 732 cm^{-1} posiblemente corresponde al enlace metal-ácido.

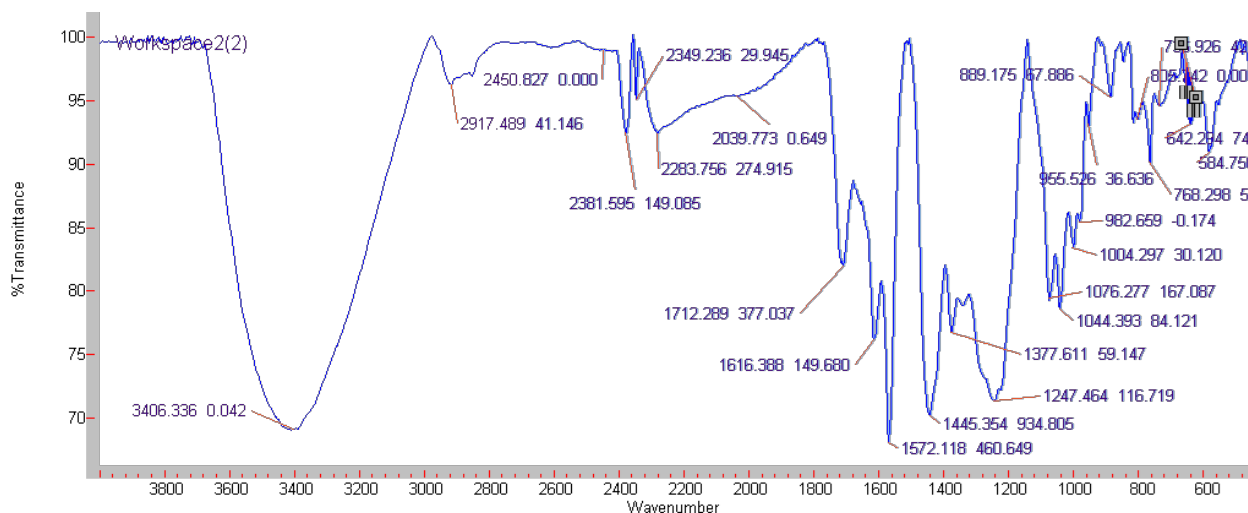


Figura 8. Espectro de Infrarrojo de ácido carnínico con cloruro de cobre

En la figura 8 se analiza el espectro infrarrojo del compuesto de cloruro de cobre que presenta picos en el rango de 3406 correspondiente a las vibraciones del -OH de los grupos fenólicos y al ác. Carboxílico, mientras que las señales presentes en 1616 y 1572 cm^{-1} son atribuidas al modo vibracional de C=C de la antraquinona y la banda que aparece en 1712 cm^{-1} pertenece al enlace C=O de las cetonas aromáticas del ácido carnínico y la banda que se encuentra en 768 cm^{-1} corresponde al enlace metal- ligando.

CONCLUSIÓN

Se lograron sintetizar y caracterizar compuestos de coordinación de ácido carnínico con metales de transición como cobre, mercurio y bismuto, en los que se observa la presencia de color, según el metal al que se liga es la coloración que da ya que los elemento de transición tienen orbitales d por lo cual se obtiene un color.

Dichos compuestos se caracterizaron por espectroscopía Ultravioleta Visible e Infrarroja en donde el Uv-Vis dio como resultado la variación de la absorbancia en función de la longitud de onda, mostrando que los pares de electrones libres presentes en el ácido carnínico muy probablemente se están enlazando con los orbitales vacíos del ion metálico y por ello se observa un desplazamiento en las longitudes de onda que van desde 485 nm, 495nm y 570 nm y por ende una diferencia del color dependiendo del metal del que se trate. En el caso de los espectros por Infrarrojo se observa un pequeño desplazamiento de las señales características de los grupos funcionales que contiene el ácido carnínico y se observa una señal alrededor de 700 a 800 nm que corresponde a la presencia de un metal.

Se puede concluir que se logró obtener compuestos coordinados de ácido carnínico de diferentes metales, los cuales se van a corroborar y reforzar con caracterización por RMN y DR-X para que en un futuro no muy lejano estos compuestos puedan tener una aplicación industrial como puede ser de alimentos, cosmética o farmacéutica.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. M. Centeno. Extracción, estabilización y evaluaciones analíticas del carnín. Tesis de M. en C. CINVESTAV-IPN. México, D. F. 2003, 115 p.
2. Castelló, T. Ensayo para el Encuentro sobre cochinilla en el Museo de la Pinacoteca Virreinal. México 1997.
3. Hamnett, B. R. Política y comercio en el sur de México, 1750-1821. 2a ed., Instituto Mexicano de Comercio Exterior, México, 1976, 17 pp.

4. Marmion D. M. Handbook of U.S. Colorants, Foods, Drugs, Cosmetics, and Medical Devices. John Wiley & Sons, New York, USA, 1991. 247 p.
5. Saenz C., H. Berger. Utilización Agroindustrial del nopal. Boletín de Servicios Agrícolas. FAO. New York, USA, 2008. 165 p.
6. Zorn B. Process for the production of Polyurethane coatings. United States Patent US3904796, 1975.

ESTUDIO COMPUTACIONAL DEL EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE EL MECANISMO DE AGREGACIÓN DE PARTÍCULAS COLOIDALES A CORTO ALCANCE UTILIZANDO EL MODELO PAC

Leticia Hernández Mauro¹, Miguel Ángel Vaca Hernández², María de la luz Delgadillo Torres² y Mariana Bárcenas Castañeda²

¹Universidad Tecnológica Fidel Velázquez, ²Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec.

RESUMEN

En el presente trabajo, se realiza el estudio generalizado del mecanismo de agregación de partículas coloidales en presencia de inhibidores mediante simulación molecular (de simulación Monte Carlo) en conjunto con el modelo PAC (control de aglomeración de partículas) para corto alcance. Se estudia el efecto de la temperatura sobre el mecanismo de agregación con una concentración de inhibidores de $K=1.5$ y un alcance del potencial de interacción coloidal de $l=1.15$. Se reporta el proceso de agregación en función del tamaño promedio de agregado, un análisis de la distribución de frecuencia normalizada de agregados coloidales, fracción de monómeros y función estructural de distribución radial ($g(r)$). Los resultados muestran que a temperaturas altas disminuye la agregación coloidal, provocando una disminución del tamaño promedio de agregado y en consecuencia una mayor cantidad de monómeros en suspensión, efecto contrario a temperaturas bajas.

INTRODUCCIÓN

El estudio del fenómeno de agregación en suspensiones coloidales, es de interés para diversas áreas de la ciencia para el desarrollo de conocimiento básico, la creación de nuevos materiales y procesos. En este sentido, se han propuesto diversos modelos teóricos para la predicción del mecanismo de agregación de proteínas, asfaltenos, partículas Janus, etc. (Bomboi et al 2016; Brunsteiner et al. 2013; Conradi M. et al. 2010; Aguilera et al. 2006). Por ejemplo, el modelo de partículas parche conformado por sitios asociativos han representado a las interacciones de las moléculas de ADN y partículas Janus. Modelos semejantes se han utilizado para describir la interacción de asfaltenos por un sitio fuerte rodeado de otros más débiles, con el objetivo de representar la existencia de grupos aromáticos o enlaces de hidrogeno (Aguilera et al. 2006). Dichos modelos, se pueden dividir ampliamente en dos categorías: enfoques estadísticos y modelos basados en la física complementados con simulación molecular. Los modelos basados en enfoques estadísticos utilizan descriptores como la carga neta o los patrones de secuencia, y a menudo incluyen parámetros empíricos ajustados para reproducir datos experimentales (Brunsteiner et al., 2013). Los modelos basados en la física son capaces de predecir la contribución de las interacciones coloidales al mecanismo de agregación.

Ante la necesidad de generar modelos para describir el proceso reversible de agregación coloidal que permitan comprender el complejo mecanismo de aglomeración y la representación de comportamientos experimentales, se han utilizado diversas técnicas de simulación y herramientas para elucidar dicho fenómeno. Existen diversas técnicas de simulación que han sido utilizadas para el modelado de la agregación de partículas coloidales, de las cuales las más usadas son simulación Monte Carlo (MC) y Dinámica molecular (DM). MC es un método estocástico, es decir, que se guía por pasos al azar el cual considera un conjunto de partículas estadísticas, donde cada evento tiene una probabilidad de ocurrencia, que puede ser cuantificada a través de funciones de frecuencia calculadas con base en la interacción de partículas (Liu 2011; Pérez 2014). MD es una técnica que permite calcular las propiedades de transporte y equilibrio de sistemas clásicos de muchas partículas, siguiendo la evolución del sistema con el tiempo para cada partícula conforme se resuelven las ecuaciones de movimiento de Newton.

El objetivo principal de este trabajo consistió en estudiar la influencia de la temperatura sobre el fenómeno de agregación coloidal mediante simulación MC en conjunto con el modelo de potencial PAC (control de aglomeración de partículas) a corto alcance ($l=1.15$), con lo cual se describe el mecanismo del fenómeno como proceso reversible. Además de proporcionar información sobre la distribución del tamaño de los agregados y la estructura de los mismos a través de la función de distribución radial.

METODOLOGIA

El modelo PAC consiste en una mezcla de dos componentes: partículas coloidales (C) y partículas de inhibidor (I) ambas se consideran como esferas duras con diámetro $\sigma_C = 1$ y $\sigma_I = 1/3$ respectivamente (ver figura 1). Las partículas coloidales interactúan a través de modelo de pozo cuadrado (figura 2a-b) descrita por la ecuación 1, donde r_{ij} es la distancia entre los centros de partículas i y j , ϵ y λ son la profundidad y el ancho del pozo, respectivamente, f_C y f_D son el número actual de conexiones de la partícula coloidal k con otras partículas C y D, respectivamente, y F es la funcionalidad de una partícula C, es decir, la cantidad máxima de enlaces por partícula. Mientras que, la interacción coloide-inhibidor se lleva a cabo mediante el modelo de Smith-Nezbeda (figura 2c), donde Ω representa la orientación de la partícula de inhibidor-dispersante (definida por la localización del sitio asociativo sobre la superficie de la partícula) y Z_{SN} es la distancia entre el centro de una partícula coloidal y el sitio de la partícula del inhibidor-dispersante (ver figura 1b). La formación de enlaces entre las partículas C e I solo es posible para orientaciones y distancias entre ellas de $w = 0.55$.

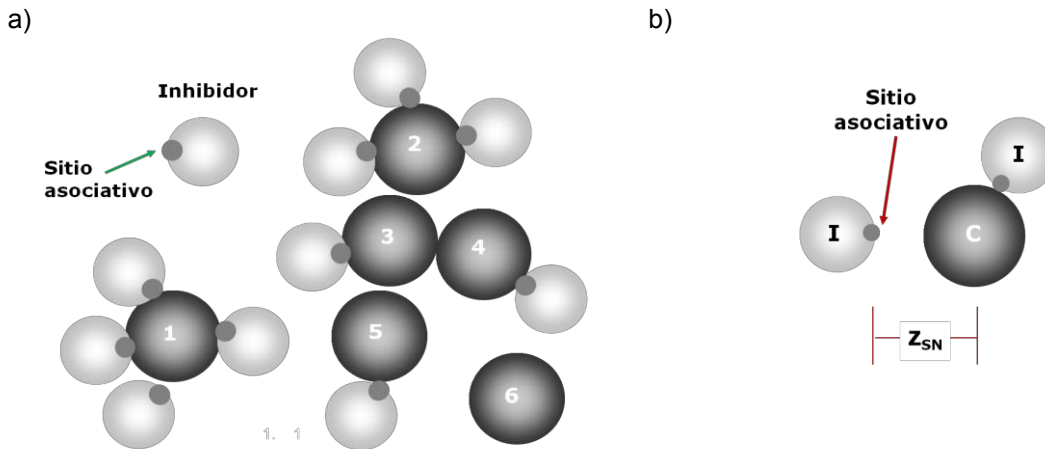


Figura 1. a) Representación esquemática de la formación de agregados con funcionalidad $F=4$
b) Representación esquemática de la interacción coloide-inhibidor tomadas de Bárcenas (2007).

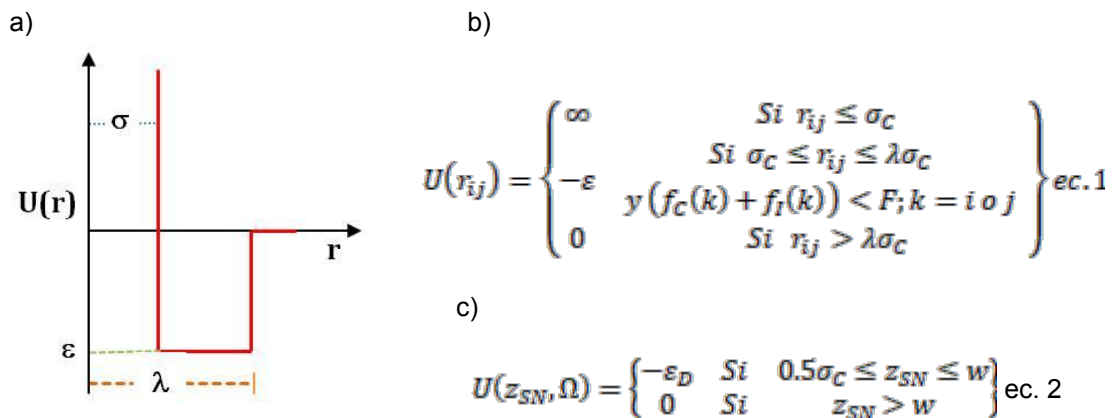


Figura 2. a) Representación esquemática del modelo de potencial de pozo cuadrado. b) Ecuación 1, describe numéricamente al modelo de pozo cuadrado. c) Ecuación 2, describe la interacción coloide – inhibidor mediante el modelo de Smith – Nezbeda.

Detalles de Simulación

Se utiliza la técnica de simulación de Monte Carlo (MC), se considera una caja cúbica de longitud L con volumen constante, $V=L^3$, colocando condiciones periódicas en las tres direcciones. Se elige un número de partículas C , $N_C=600$ y partículas I $N_I=900$, con un ensamble canónico (NVT, número de moles, volumen y temperatura constante). Todas las partículas del sistema, se colocan en la caja de simulación con coordenadas aleatorias en las tres direcciones, x , y , z , entre 0 y L .

RESULTADOS

Se llevo a cabo un estudio sistemático del mecanismo de agregación coloidal como un proceso reversible utilizando el modelo PAC, en un intervalo de temperatura: $0.14 \leq T^* \leq 0.42$. El proceso de agregación se reporta en función del tamaño promedio de agregado (Z) y fracción de monómeros (X_0), tal como se muestra en la figura 2 y 3. Se observa en la figura 2 una disminución de Z respecto a la temperatura para temperaturas mayores a 0.18. Tal comportamiento es congruente con la fracción de monómeros dispersos, la cual aumenta con el incremento de la T^* , ver figura 3. En la figura 2, los resultados de este trabajo se comparan con resultados previos para un alcance de potencial mayor ($\lambda=1.25$) ambas series de datos presentan un comportamiento similar, donde se puede apreciar un máximo en el tamaño promedio de agregado. Este máximo característico se desplaza respecto a la temperatura en función del alcance del potencial.

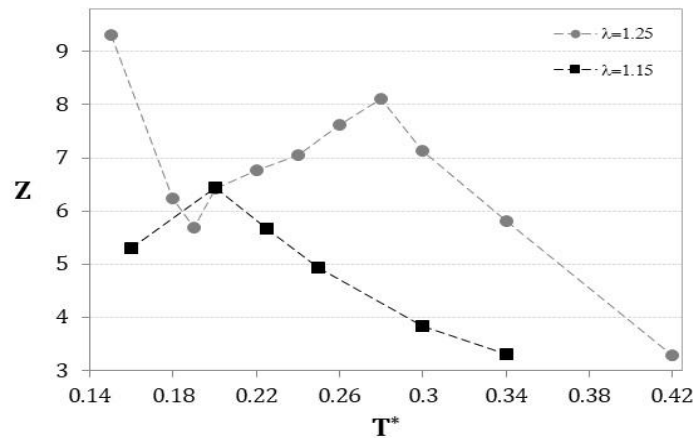


Figura 2. Tamaño de agregado como función de la temperatura reducida, T^* para una concentración de inhibidor $K=1.5$ para dos alcances de potencial

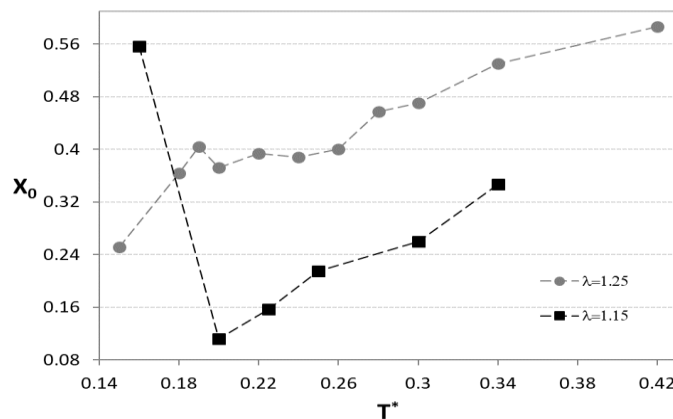


Figura 3. Fracción de monómeros como función de la temperatura reducida, T^* para una concentración de inhibidor $K=1.5$ para dos alcances de potencial

El análisis de resultados se complementa con una descripción estructural de la formación de agregados coloidales, a través de la distribución de frecuencia normalizada de agregados coloidales (ver figura 4) y la función de distribución radial ($g(r)$), tal como se muestra en la figura 5. En la figura 4 se puede observar que a temperaturas mayores se forman un número mayor de agregados y una menor frecuencia de formación de aglomerados coloidales tales como trímeros, tetrámeros etc., y sin la formación prácticamente de agregados de gran tamaño.

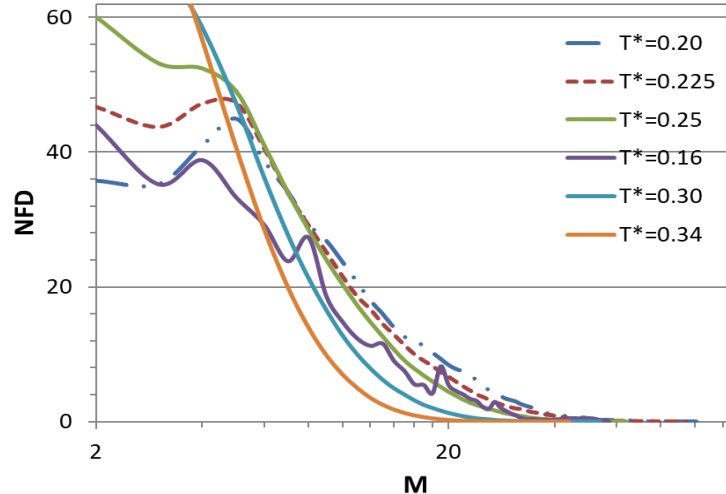


Figura 4. Distribución de frecuencia normalizada de agregados de tamaño M , para seis temperaturas

Por último, en la figura 5 se muestra la función de distribución radial, $g(r)$, para cuatro temperaturas $0.20 \leq T^* \leq 0.34$, con el propósito de verificar el grado de compactación de los agregados coloidales. Se puede observar en la figura que para todas las temperaturas se forma un pico en $r = 2$, siendo de menor intensidad para $T^* = 0.34$, es decir, los agregados son menos compactos

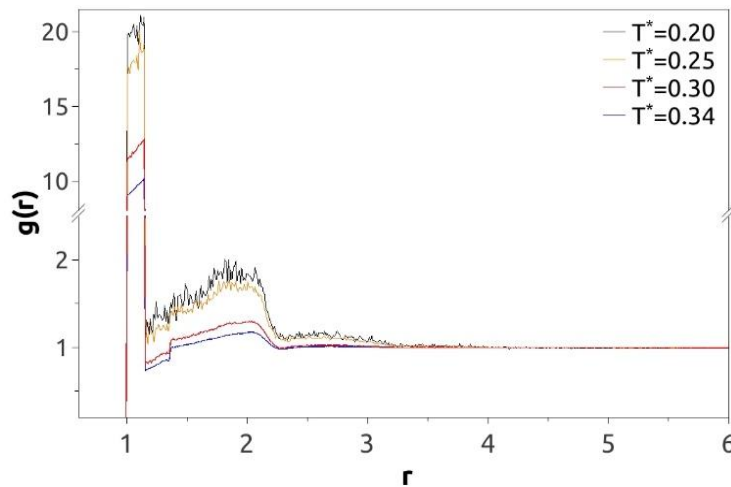


Figura 5. Función de distribución radial, $g(r)$

CONCLUSIONES

Los resultados muestran que a temperaturas altas disminuye la agregación coloidal, viéndose reflejado en la disminución del tamaño promedio de agregado y en consecuencia una mayor cantidad de monómeros en suspensión, efecto contrario a temperaturas bajas. Sin embargo, se observa un

máximo en el comportamiento del tamaño promedio de agregado respecto a la temperatura, donde a una temperatura muy baja la agregación disminuye. Este efecto se presenta a alcance de potencial mayores, con un desplazamiento respecto a la temperatura. Dicho comportamiento puede atribuirse a que el inhibidor, aciertas concentraciones, provoque la formación de agregados a ciertas temperaturas en lugar de inhibir la aglomeración.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aguilera, B. M.; Herdes, D.; Murgich, J. y Müller, E. A. Mesoscopic simulation of aggregation of asphaltene and resin molecules in crude oils. *Energy & Fuels* Vol. 20, 1, 2006, pp. 327-338
2. Bárcenas, M., Douda, J., & Duda, Y. (2007). Temperature dependence of the colloidal agglomeration inhibition: Computer simulation study. *The Journal of chemical physics*, Vol. 127, 11, 2007, pp 114706
3. Bárcenas M. Estudio del Mecanismo de Acción de los Inhibidores de Aglomeración de Asfáltenos. Tesis (Doctorado en Ciencias), Instituto Mexicano del Petróleo, D.F., México, 2008.
4. Bomboi, F.; Romano, F.; Leo, M.; Fernandez-Castanon, J.; Cerbino, R.; Bellini, T.; Bordi, F.; Filetici, P. and Sciortino, F. Re-entrant DNA gels. *Nature Communications*, Vol. 7, 2016, pp. 1-7.
5. Brunsteiner M, Flock M, Nidetzky B. Structure Based Descriptors for the Estimation of Colloidal Interactions and Protein Aggregation Propensities. *PLoS ONE*, Vol. 8, 4, 2013, pp. 59797
6. Conradi, M., Zorko, M., y Muševič, I. Janus nematic colloids driven by light. *Optics Express*, Vol. 18, 2, 2010, pp. 500-506.
7. Liu, H. H., Surawanvijit, S., Rallo, R., Orkoulas, G., & Cohen, Y. Analysis of nanoparticle agglomeration in aqueous suspensions via constant-number Monte Carlo simulation. *Environmental science & technology*, Vol. 45, 21, 2011, pp. 9284-9292
8. Safaie, K., & Solaimany Nazar, A. R. Monte Carlo Modeling of Asphaltene Aggregation Coupled with Sedimentation. *Journal of Dispersion Science and Technology*, Vol. 34, 8, 2013, pp. 1173-1182.
9. Iranipour, G. T., Garcia-Rubio, L. H., & Harmon, J. P. Modeling and simulation of aggregation processes in colloidal systems. *Journal of dispersion science and technology*, Vol. 25, 4, 2005, pp. 555-565.

SÍNTESIS DE $\text{Sr}_4\text{Al}_{14}\text{O}_{25}:\text{G}-\text{C}_3\text{N}_4$ POR UN MÉTODO DE COMBUSTIÓN MODIFICADO

Takawira Joseph Mumanga¹, Maricela Guzmán Rocha¹, Carlos Eduardo Rodríguez García², Christian Gómez Solís³, Luis Armando Díaz Torres¹

¹Centro de Investigaciones en Óptica, ²Universidad Autónoma de Coahuila, ³División de Ciencias e Ingeniería, Universidad de Guanajuato.

RESUMEN

En este trabajo los polvos de baja densidad del nanocatalizador $\text{Sr}_4\text{Al}_{14}\text{O}_{25}$ se obtienen a partir de un método de combustión modificado. La ventaja de este método es la formación del compuesto polimérico $\text{g}-\text{C}_3\text{N}_4$ ocluido dentro de las partículas de $\text{Sr}_4\text{Al}_{14}\text{O}_{25}$. El $\text{g}-\text{C}_3\text{N}_4$ responde a la luz visible (2,7 eV bandgap) y ha sido reportado como potenciador de la actividad fotocatalítica¹. El método de síntesis presentado es más fácil, rápido, y de menor costo, que otros métodos convencionales de síntesis. La caracterización de $\text{Sr}_4\text{Al}_{14}\text{O}_{25}:\text{g}-\text{C}_3\text{N}_4$ se realizó por difracción de rayos X con el fin de verificar la formación de la fase cristalina ortorrómbica del $\text{Sr}_4\text{Al}_{14}\text{O}_{25}$. Estudios de espectroscopia Raman indican la posible formación de puntos cuánticos de carbono ($\text{g}-\text{C}_3\text{N}_4$) ocluido entre las partículas de $\text{Sr}_4\text{Al}_{14}\text{O}_{25}$.

INTRODUCCIÓN

La modificación en el método de preparación de catalizadores mediante la co-condensación de precursores ricos en N con heteroelementos abundantes en la tierra ha mostrado grandes mejoras en las actividades fotocatalíticas². Estas mejoras se ven facilitadas por la incorporación de $\text{g}-\text{C}_3\text{N}_4$ en la matriz del catalizador huésped formando así un material compuesto de heterounión³. Las ventajas incluyen una baja probabilidad de recombinación de electrón/agujero, un 'bandgap' más amplio que conduce a una mejor respuesta de la luz visible, transferencia fotoinducida rápida de electrones y un área de superficie aumentada para la interacción fotocatalítica como resultado de una densidad de material muy baja⁴.

TEORÍA

La fase ortorrómbica del aluminato de estroncio es de interés debido a su estabilidad, ancho de banda, bajas propiedades de luminiscencia cuando está dopada, lo que es una indicación de propiedades de transferencia de electrones deseables y finalmente debido a su susceptibilidad a la formación de vacancias de oxígeno tras la reducción⁵. La presencia de defectos disminuye la tendencia de los electrones fotoinducidos a recombinarse en los agujeros, haciéndolos más activos en las reacciones redox que son clave para lograr aplicaciones útiles como la generación del hidrógeno y la reducción del dióxido de carbono. El nitruro de carbono grafitico, por otro lado, es un material sensible a la luz visible que promueve la formación de sitios de retención de carga². La combinación del aluminato de estroncio y nitruro de carbono mediante la co-condensación es una forma de obtener las ventajas de ambos compuestos, particularmente para procesos fotocatalíticos.

PARTE EXPERIMENTAL

En primer lugar, los materiales precursores se disuelven a 45°C en ácido cítrico como combustible y etanol como disolvente. En la segunda etapa, se introduce el hidróxido de amonio como agente de precipitación a 90°C. En tercer lugar, se promueve el proceso de combustión a 400°C produciendo una espuma sólida. Finalmente las muestras son calcinadas a 1150°C durante 6 horas, ya sea en una atmósfera de oxidación del aire, una atmósfera reductora de carbono o ambas de manera sucesiva. En la figura 1 se muestra el método.



Figura 1 – Etapas del método de síntesis

RESULTADOS

Los siguientes resultados (figura 2 y 3) confirman la formación de la fase y la presencia del nitruro de carbono.

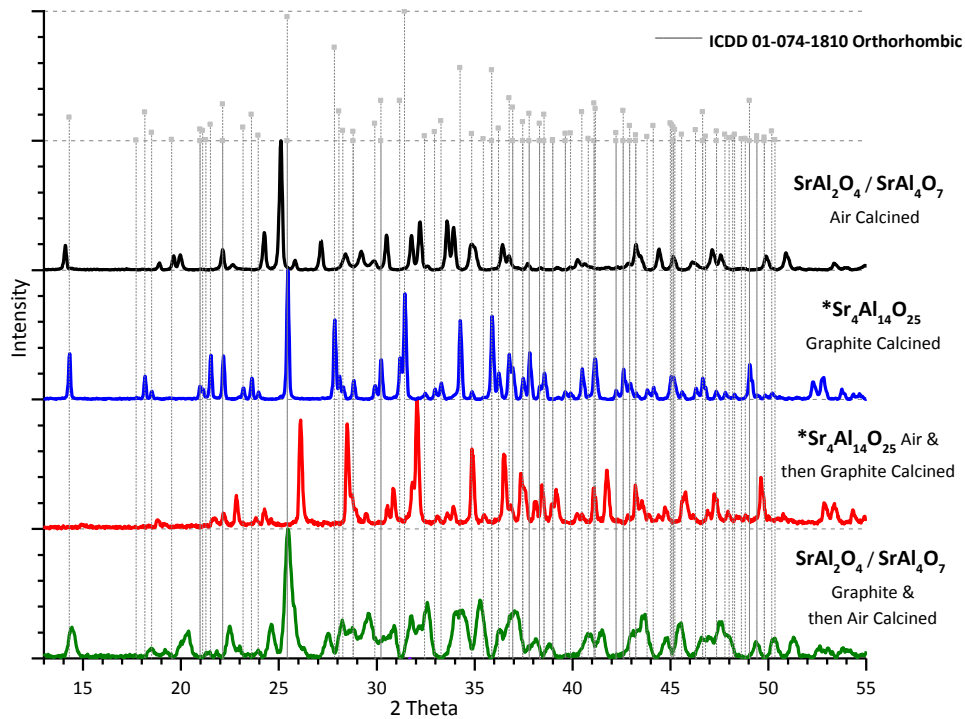


Figura 2 – Patrones de los rayos-X

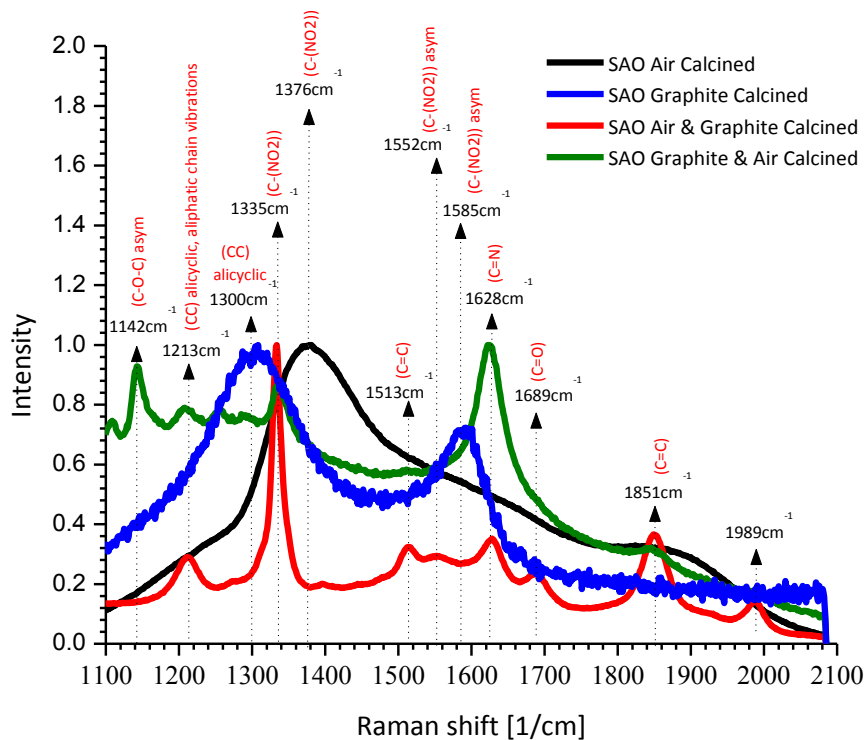


Figura 3. Espectros de Raman

CONCLUSIONES

Se concluye que la atmósfera de calcinación es determinante de la formación de la $\text{Sr}_4\text{Al}_{14}\text{O}_{25}$ fase ortorrómbica; además, una atmósfera reductiva puede mejorar la cristalización de la fase cristalina ortorrómbica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sheng Ye, Rong Wang, Ming-Zai Wu y Yu-Peng Yuan, "A review on g- C_3N_4 for photocatalytic water splitting and CO_2 reduction", Applied Surface Science, Vol. 358, 2015, pp. 15-27.
2. Sujeong Kim, Gun-hee Moon, Hyejin Kim, Yeongdong Mun, Peng Zhang, Jinwoo Lee, Wonyong Choi, "Selective charge transfer to dioxygen on KPF_6 -modified carbon nitride for photocatalytic synthesis of H_2O_2 under visible light", Journal of Catalysis, Vol. 357, 2018, pp. 51-58.
3. Rachel Fagan, Declan E. McCormack, Steven J. Hinder, Suresh C. Pillai. "Photocatalytic Properties of g- C_3N_4 - TiO_2 Heterojunctions under UV and Visible Light Conditions", Materials 2016, 9(4), pp. 286.
4. Laura Clarizia, Danilo Russo, Liria Di Somma, Roberto Andreozzi, Raffaele Marotta, "Hydrogen Generation through Solar Photocatalytic Processes: A Review of the Configuration and the Properties of Effective Metal-Based Semiconductor Nanomaterials", Energies 2017, 10(10), pp. 1624.
5. Maricela Guzmán Rocha, "Síntesis y caracterización de aluminatos de estroncio dopados con Ce, Eu Y Cr", Thesis Dissertation, Centro de Investigaciones en Óptica, 2016.

ESPECTROSCOPIA RAMAN DE LA PROTEÍNA P53 WILD TYPE Y SUS MUTANTES

Karen Hernández Vidales¹, Francisco Javier González Contreras², Edgar Guevara Codina³ y Vanesa Olivares Illana⁴

¹ Universidad Autónoma de San Luis Potosí, ² CIACYT-UASLP, ³ CONACYT-UASLP, ⁴ Instituto de Física - UASLP.

RESUMEN

Se reporta la caracterización mediante espectroscopía Raman de diferentes tipos de proteína p53. Se implementó regresión por mínimos cuadrados parciales para determinar la correlación lineal entre los espectros y su concentración, calculando a partir del resultado el límite de detección de la proteína mediante este tipo de espectroscopía. La clasificación de los tipos de muestras se logró mediante el método no supervisado de análisis de componentes principales.

INTRODUCCIÓN

El supresor tumoral p53 juega un papel sumamente importante en la tarea de preservar la integridad del ADN en las células. Inactivación o mutaciones de este gen podrían conducir a fallas en sus funciones como reparador del ADN y por consecuencia no detener el crecimiento de células malignas llevando al desarrollo de tumores cancerígenos [1,3].

Hoy en día la optimización en las técnicas de detección de p53 es de gran interés [1,2,4]. Numerosos métodos de medición han sido probados incluyendo el ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA) y resonancia plasmónica de superficie (SPR), sin embargo, estos métodos presentan la desventaja de requerir procedimientos largos y laboriosos [1,4]. Se ha explorado la medición de p53 mediante espectroscopía Raman y se ha demostrado que es una técnica eficaz que permite identificar con mayor precisión las características del gen p53 [2].

En particular, el presente trabajo reporta la medición de espectroscopía Raman para p53 de tipo salvaje (wt p53) y sus mutantes 273, 343 y 344. Los espectros obtenidos han sido estudiados mediante dos métodos multivariante: regresión por mínimos cuadrados parciales (PLSR) y análisis de componentes principales (PCA). Los resultados de PLSR permitieron determinar el límite de detección para wt p53 en solución acuosa mientras que la implementación de PCA demostró que es posible utilizar los espectros Raman en conjunto con este tipo de técnicas numéricas para clasificar y diferenciar los especímenes de p53.

TEORÍA

Un biomarcador se refiere a un indicador medible relacionado con una condición o estado biológico, en muchos casos el marcador es una o varias sustancias cuya detección puede asociarse a la presencia, comportamiento o ausencia de una enfermedad. El uso de biomarcadores para investigación médica tanto básica como clínica, se ha convertido en algo común y ampliamente aceptado, sin embargo, su identificación y caracterización representa un desafío, principalmente porque los métodos actuales de detección son sumamente elaborados y costosos [5].

Existen biomarcadores específicos que han sido bien identificados y en algunos casos ha sido posible usarlos para mejorar la predicción, el diagnóstico y el tratamiento de enfermedades. Otros marcadores continúan siendo estudiados, tal es el caso de la proteína p53: gen supresor tumoral que ante daño celular activa la reparación de las células o bien induce apoptosis. Este biomarcador ha sido encontrado en la mayoría de los cánceres humanos y en más del cincuenta por ciento de ellos existen mutaciones de este gen. La mayoría de los estudios dedicados a p53 se enfocan en explicar su activación-inactivación, su estructura molecular y sus mutaciones [3], otros trabajos han presentado la detección de p53 a muy bajas concentraciones con métodos tales como Elisa y espectroscopía Raman mejorada en superficies (SERS) [1, 4]; no obstante, todos los métodos utilizados implican complicadas técnicas de preparación y manejo de muestras, así como de interpretación de resultados.

En general, la espectroscopía Raman es un método ampliamente usado para el estudio y caracterización de biomarcadores, esta técnica óptica proporciona información química y estructural de casi cualquier material o compuesto permitiendo su identificación. Se basa en el análisis del

fenómeno de dispersión inelástica de luz monocromática incidiendo sobre un material, las variaciones de frecuencia observadas corresponden a variaciones de energía característicos del material analizado. Este tipo de estudio no altera la superficie sobre la que se realiza el análisis por lo que es una técnica no destructiva [6].

Sin embargo, el análisis e interpretación de espectros Raman, puede ser una tarea complicada. La implementación de métodos de análisis multivariante puede ser utilizada para, pues permiten el manejo de grandes cantidades de datos y obtener de ellos la información más relevante. En particular, el método de análisis de componentes principales permite la reducción de datos para visualizar, describir, clasificar e identificar las variables más importantes en el estudio eliminando datos correspondientes a ruido [2, 7, 8].

PARTE EXPERIMENTAL

Dos muestras en solución acuosa de proteína humana p53 de tipo salvaje (wt p53) en concentraciones 12.6 y 18.9 μM , (pureza > 95%) y tres muestras de p53 mutantes (mutante 273, concentración 9.04 μM , pureza > 96%; mutante 343, concentración 6.10 μM , pureza > 96% y mutante 344, concentración 17.7 μM , pureza > 96 %) fueron sintetizadas en el Laboratorio de Interacciones Biomoleculares y Cáncer del Instituto de Física (UASLP). A partir de la solución wt p53 de 12.6 μM se prepararon disoluciones adicionales a 8.4, 4.2, 2.8, 2.1 y 1.7 μM , utilizando una solución buffer (PBS, pH 7.5).

Se adquirieron espectros Raman de cada muestra de proteína con un espectrómetro confocal Horiba Yvon XploRA ONE acoplado a un microscopio óptico Olympus BX41. Las mediciones fueron colectadas usando un objetivo de microscopio x20LWD, un diodo láser de 785 nm como fuente de excitación y una rejilla de 1800 gr/mm para adquisiciones en un rango de 300 a 2000 cm^{-1} . Los experimentos fueron realizados a temperatura ambiente depositando una gota de cada espécimen de p53 en un sustrato de aluminio anodizado. Variando la posición de enfoque en la muestra se adquirieron tres espectros de la solución de proteína wt p53 y tres espectros de cada muestra mutante. Se obtuvieron dos espectros para cada una de las concentraciones adicionales de wt p53, así como para el solvente PBS como referencia de concentración cero. Se eliminó fluorescencia a cada espectro mediante el algoritmo de Vancouver [9].

El grupo de espectros correspondientes a las concentraciones 12.6, 8.4, 4.2, 2.8, 2.1, 1.7 y 0 μM se normalizó respecto a las intensidades máximas y mínimas del conjunto. Se conformó la matriz de variables X, donde cada renglón representa un espectro y cada columna es una medición. El vector de respuesta Y consistió en las concentraciones correspondientes a cada espectro de la matriz X. Se aplicó regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS) para obtener la relación lineal entre los espectros y sus concentraciones. El desempeño del modelo se validó mediante *leave-one-out cross-validation*, calculando el error cuadrático medio (RMSE) y el coeficiente de determinación (R^2):

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_n (\hat{y}_i - y_i)^2}{n}} = 0.08 \quad (1),$$

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_n (\hat{y}_i - y_i)^2}{\sum_n (y_i - \bar{y}_i)^2} = 0.99 \quad (2).$$

El límite de detección (LOD) fue calculado a partir de la siguiente ecuación 3:

$$LOD = 3 \frac{s}{m} = 1.21 \mu\text{M} \quad (3),$$

donde m es la pendiente del ajuste y s es la desviación estándar de los residuos como medida de la desviación media de los valores previstos desde la línea de regresión [8].

Se implementó PCA a un set de datos conformado con los espectros correspondientes a las tres muestras de p53 mutante, wt p53 a 18.9, 8.4 y 4.2 μM , cada espectro correspondió a una variable de la matriz de datos.

RESULTADOS

Para un análisis cualitativo de vibraciones, los espectros para cada tipo de p53 fueron promediados, la Figura 1 muestra el correspondiente espectro resultante.

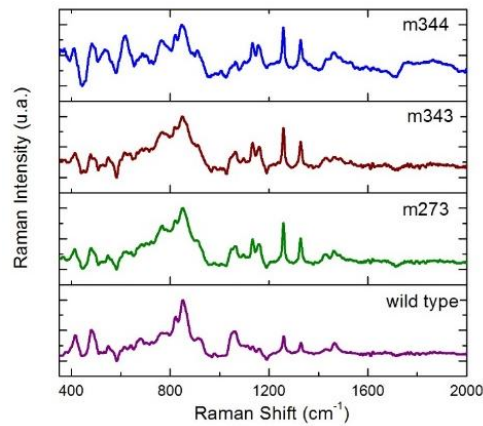


Figura 1. Espectros Raman de la proteína wt p53 (18.9 μM) y las mutantes 273, 343 y 344.

La Figura 2 muestra los espectros Raman obtenidos para las diferentes concentraciones de wt p53 en solución salina y el espectro del solvente PBS. Es evidente que a medida que la cantidad de p53 es menor en la muestra, se presenta una disminución de la intensidad de los principales picos asociados al espectro, es decir: existen menor cantidad de moléculas de la proteína emitiendo radiación.

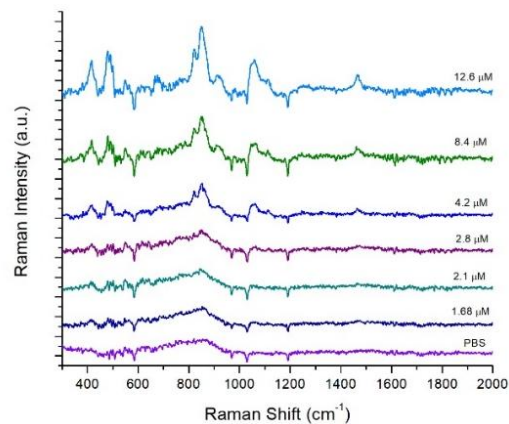


Figura 2. Espectros Raman obtenidos de la proteína wt p53 en solución acuosa a diferentes concentraciones y del solvente PBS.

El resultado del ajuste lineal para la predicción de concentraciones a partir de PLS se muestra en la Figura 3. La línea roja representa un ajuste ideal, la desviación de los valores predichos es representada en la Figura 4. Se tomaron en cuenta dos componentes principales para la regresión, las cuales explican el 98.3% de la varianza total, el desempeño del modelo resultó en RMSE=0.08 y $R^2 = 0.99$. El valor del límite de detección obtenido fue de LOD = 1.21 μM .

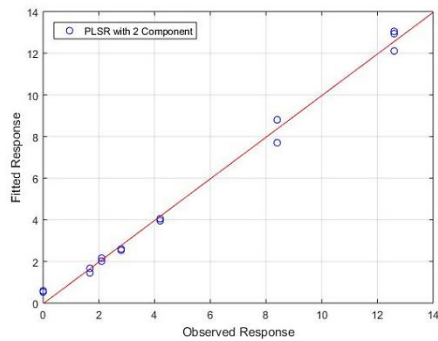


Figura 3. Concentraciones reales de muestras de p53 vs concentraciones predichas por el modelo de ajuste.

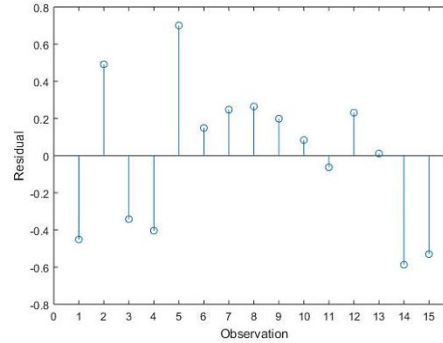


Figura 4. Residuos del ajuste para la predicción de concentraciones.

Mediante la implementación de PCA se constató la existencia de diferencias, clasificando efectivamente los tipos de p53 y permitiendo distinguir entre mutantes y wild type. La Figura 5 muestra la separación entre las especies de p53 en términos de los tres primeros componentes principales, los cuales contienen el 94.74 % de la varianza total.

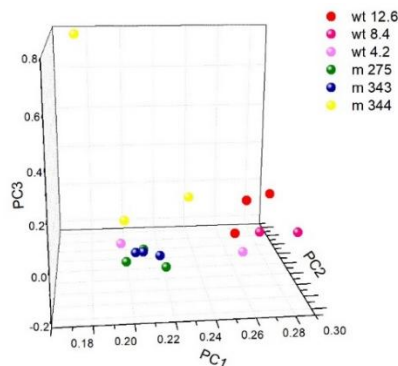


Figura 5. Grafica de coeficientes de los tres primeros componentes principales.

CONCLUSIONES

Se concluyó con el análisis de los espectros para wt p53 a diferentes concentraciones, mediante la regresión obtenida entre los espectros y sus concentraciones, se calculó el límite de detección para el cual es posible la medición de p53 mediante espectroscopía Raman.

La implementación de análisis de componentes principales permitió distinguir entre las muestras de wt p53 y mutantes. Se corrobora que la espectroscopia Raman, en su forma más simple, es una técnica rápida y capaz de acceder a las características estructurales por lo que es una herramienta sumamente útil en el estudio de biomarcadores, la combinación de esta con métodos de análisis multivariante podría permitir eliminar la incertidumbre que conlleva la interpretación de los espectros y develar información relevante

BIBLIOGRAFÍA

1. W. Lei, Z. Wang, S. Zong, H. Chen, C. Wang, S. Xu and Y. Cui. (2013). Simultaneous evaluation of p53 and p21 expression level for early cancer diagnosis using SERS technique. *Analyst*, 138, 3450.

2. Signorelli, S.; Cannistrano, S.; Bizzarri, A.R. (2016). Structural Characterization of the Intrinsically Disordered Protein p53 Using Raman Spectroscopy. *Applied Spectroscopy* 0, 1–10.
3. Palit Deb, S., Deb, S. (2015). *Mutant p53 and MDM2 in Cancer*. Richmond, VA, United States of America, Springer.
4. Peter Owens; Nigel Phillipson; Jayakumar Perumal, Gerard M. O'Connor, Malini Olivo. (2015). Sensing of p53 and EGFR Biomarkers Using High Efficiency SERS Substrates. *Biosensors* 5, 664-677.
5. Strimbu, K. & Travel, J.A.. (2011). What are Biomarkers?. *Curr Opin HIV AIDS.*, 5, 463-466
6. Zoubir, A.. (2012). *Raman Imaging, techniques and application*. USA: Springer.
7. Gonzalez, F.J, (2010). Use of Raman spectroscopy for the early detection of filaggrin-related atopic dermatitis. *Skin Research and Technology*.
8. Dingari NC, Horowitz GL, Kang JW, Dasari RR, Barman I (2012) Raman Spectroscopy Provides a Powerful Diagnostic Tool for Accurate Determination of Albumin Glycation. *PLoS ONE* 7(2): e32406. doi: 10.1371/journal.pone.0032406.
9. Zhao, J.; Lui, H.; Mclean, D.; Zeng, H.; (2007). Automated Autofluorescence Background Subtraction Algorithm for Biomedical Raman Spectroscopy. *Applied Spectroscopy* 61, 1225-1232

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL PIROGALOL Y 2,7-DIHIDROXINAFTALENO.

Aiko Araceli Santiago Onofre¹, Francisco Gumaro Ruíz Ruíz², Juan Saulo González González¹, Margarita Bernabé Pineda¹.

¹Instituto de Farmacobiología. Universidad de la Cañada. Iqc_aikoaso@unca.edu.mx, tlaneci21@unca.edu.mx,²Instituto de Genética. Universidad del Mar. Campus Puerto Escondido.

RESUMEN

La importancia de los polifenoles en la actualidad está basada en su actividad tanto antifúngicas como antioxidantes, teniendo con ellos diversos atributos relacionados a sus propiedades. En la industria farmacéutica se utilizan como nuevas faces sólidas para la formación y obtención de cocristales, sin embargo, su actividad biológica es mínima en algunos casos. En el caso del pirogalol y del 2,7-dihidroxi-naftaleno están siendo empleados para la formación de nuevos cocristales farmacéuticos de lidocaína, de estos dos compuestos se tiene muy poca información sobre su actividad biológica. En este trabajo se evalúa la actividad antifúngica del pirogalol y del 2,7-dihidroxi-naftaleno ante el *Colletotrichum gloeosporoides* y *Colletotrichum acutatum*. *Colletotrichum* es uno de los géneros más grandes que comprende una serie de especies importantes que se encuentran entre los patógenos fúngicos más frecuentes que causan diversas patogenicidad en frutas y hortalizas. Se hicieron pruebas de inhibición del crecimiento del hongo, *Colletotrichum gloeosporoides* y *Colletotrichum acutatum*. Analizando la actividad antifúngica de compuestos fenólicos contra el hongo *Colletotrichum gloeosporoides* y *Colletotrichum acutatum* en medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA). El medio PDA fue suplementado a diferentes concentraciones; 140, 100, 50 y 25mg/ml. Utilizando una técnica con perforaciones en el medio, en las cuales se agregó el compuesto fenólico. El registro de la actividad de los compuestos fenólicos en estudios sobre crecimiento de la cepa del hongo se realiza mediante la medición del área del halo de inhibición que estos compuestos proporcionan. Determinándose que ambos presentan actividad antifúngica.

INTRODUCCIÓN

Los compuestos polifenólicos poseen una estructura en la cual tienen grupos hidroxilo (OH) que actúan como donadores de hidrógenos, donando protones, para la formación de enlaces no covalentes; puentes de hidrógeno. Esta característica convierte a los compuestos polifenólicos en potenciales agentes cocrystalizantes (Balderas, Lemus, & Ortegón-, 2014). A estos compuestos se les atribuyen propiedades como la actividad antibacteriana y antifúngica, la cual está determinada por la estructura que poseen y el número de grupos OH, debido a que parecen estar relacionados con la toxicidad frente a microorganismos, debido a la introducción de grupos hidroxilo, reemplazando un átomo de hidrogeno, estando ligado a una mayor toxicidad, la toxicidad de los fenoles en microorganismos se atribuye a inhibición enzimática por oxidación de compuestos (Lauzardo, Baños, & Del Valle, 2007), por lo anterior es importante la evaluación de la actividad biológica que puedan tener estos compuestos, en el presente trabajo se presenta la actividad antifúngica de dos compuestos polifenólicos sobre cepas de interés agrícola. Estudios demuestran que los compuestos polifenólicos son los principales constituyentes de los compuestos que tienen actividad biológica antifúngica. (Cáceres, León, Vargas, Muñoz, & Muñoz, 2014)

El género *Colletotrichum* es uno de los más grandes que comprende una serie de especies importantes que se encuentran entre los patógenos fúngicos más frecuentes que causan diversa patogenicidad en frutas y hortalizas, generando enfermedades económicamente significativas de cereales y pastos, leguminosas, hortalizas y cultivos perennes, incluidos de frutas debido a que es el causante de la enfermedad conocida como antracnosis en diversos cultivos (Rincón, M, N, Bustamante, & Buitrago, 2006) (Villanueva-Arce et al., 2013). *Colletotrichum* es un patógeno ubicuo, prolifero y económicamente importante debido a que induce graves pérdidas, afectando partes vegetativas y causando deterioro postcosecha de frutos de clima templado, subtropical y tropical (Zavala, Tun, Crist, Ruiz, & Guti, n.d.), El ataque se manifiesta principalmente en hojas, la enfermedad se caracteriza por la aparición de lesiones circulares de color verde brillante, las cuales se tornan oscuras, llegando a ocasionar la caída prematura de las hojas (Soto et al., 2002). La antracnosis causada por *C. gloeosporoides* es una de las enfermedades principales que afecta la

calidad del fruto y llega a causar pérdidas cercanas al 20% (Rodríguez-López et al., 2009). Siendo la antracnosis es una de las principales enfermedades en el cultivo de papaya en México, las pérdidas reportadas superan el 50 %.(Rojo-Báez, García-Estrada, León-Félix, Sañudo-Barajas, & Allende-Molar, 2016).

TEORÍA

El experimento se llevó a cabo basándose en la técnica de la perforación mencionada en un método experimental en la determinación del efecto antifúngico de extractos fenólicos.(Rodríguez-Maturino et al., 2015).Se utilizaron secciones de 0.5 cm de diámetro de cultivos de *Colletotrichum gloeosporioides* y *Colletotrichum acutatum* en crecimiento activo (8 días de incubación) se sembraron en el centro de cajas de Petri con APD. A continuación, se realizaron 4 perforaciones de 5 mm de diámetro alrededor del hongo, a una distancia de aquel de 2 cm. En cada perforación se colocaron 50 µl de las soluciones de los extractos con las diferentes concentraciones (140,100, 50, 25 mg/ml) considerando los trabajos de Riaz et al.20 y Kappel et al.14. Como testigo se utilizaron cajas de Petri con el hongo patógeno, donde en las 4 perforaciones se colocaron 50µL de agua destilada, con la que fueron disueltos los compuestos polifenólicos. A los 4 días se midió el crecimiento micelial de cada uno de los hongos fitopatógenos evaluados y se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial mediante la siguiente fórmula: Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial.

$$\% = \left(\frac{R_1 - R_2}{R_1} \right) * 100 \quad \text{Ec. 1}$$

Donde:

R₁ es valor promedio del diámetro de la colonia de referencia

R₂ es el valor promedio del diámetro de la colonia inhibida por los compuestos polifenólicos.

PARTE EXPERIMENTAL

Se analizó la actividad antifúngica de compuestos fenólicos contra el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* y *Colletotrichum acutatum* en medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA). El medio PDA fue suplementado a diferentes concentraciones de los compuestos fenólicos; 2,7-dihidrexinaftaleno y Pirogalol. Los controles fueron suplementados con agua destilada estéril. Utilizando una técnica con perforaciones en el medio, en las cuales se agregó la solución del compuesto fenólico (fig.1).

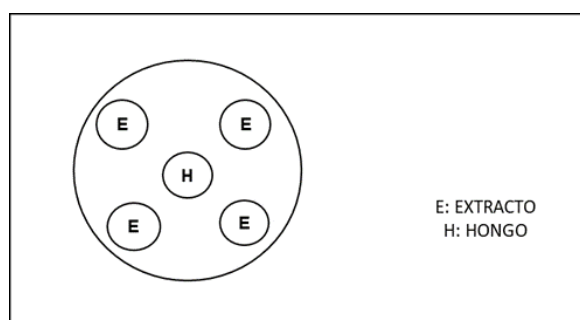


Figura.1 Demuestra cómo estaban ubicadas las perforaciones en el medio de cultivo PDA.

El registro de la actividad de los compuestos fenólicos en estudios sobre crecimiento de la cepa del hongo se realizó mediante la medición del área del halo de inhibición que estos compuestos proporcionan. Para analizar la evaluación de la actividad antifúngica fueron sembrados por triplicado en medio PDA suplementado con diferentes concentraciones de cada compuesto fenólico; 140, 100, 50 y 25mg/mL e incubados a temperatura ambiente aprox. 27°C. El efecto de inhibición realizado por cada concentración fue monitoreado cada 24 h durante cuatro días. El estudio se realizó en cepas identificadas y proporcionadas por la UMAR. Campus Puerto Escondido.

RESULTADOS

El registro de la actividad antifúngica de los compuestos polifenólicos en estudios sobre crecimiento del hongo se realizó mediante la medición del área de crecimiento. (Fig.2).

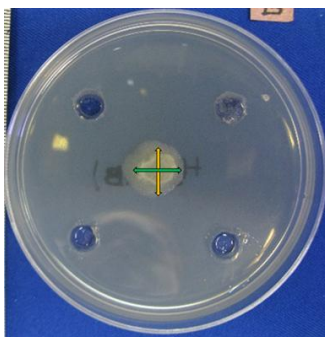


Figura 2. Medición del crecimiento de micelio.

Los registros de área de inhibición se presentan en la tabla 1 y tabla 2.

Tabla 1. Registro de la actividad antifúngica de los dos compuestos polifenólicos contra el hongo *Collecotrichum actatum*.

HONGO	CONCENTRACIONES (mg/mL)	Diámetro cm		COMPUESTO
		24 h	96 h	
<i>Collecotrichum acutatum</i>	140	-	-	Pirogalol
	100	-	-	
	50	-	-	
	25	-	-	
	140	-	1.0	2,7 dihidroxinaftaleno
	100	-	2.0	
	50	-	4.0	
	25	-	5.0	
CONTROL	-	1.0	16	Agua

Tabla 2. Registro de la actividad antifúngica de los dos compuestos polifenólicos contra el hongo *Collecotrichum gloeosporoides*.

HONGO	CONCENTRACIONES (mg/mL)	Diámetro cm		COMPUESTO
		24 h.	96 h	
<i>Collecotrichum gloeosporoides</i>	140	-	-	Pirogalol
	100	-	-	
	50	-	-	
	25	-	-	
	140	-	2.0	2,7 dihidroxinaftaleno
	100	-	2.5	
	50	-	5.0	
	25	-	5.0	
CONTROL	-	1.0	16	Agua

Los porcentajes de inhibición se calcularon con la ecuación (1), los datos obtenidos se presentan en la tabla 3 y 4.

Tabla 3. Porcentaje de inhibición de los extractos contra el hongo *Colletotrichum acutatum*.

HONGO	CONCENTRACIONES (mg/mL)	% de inhibición		COMPUESTO
		24 h	96 h	
<i>Colletotrichum acutatum</i>	140	100	100	Pirogalol
	100	100	100	
	50	100	100	
	25	100	100	
	140	100	93.75	2,7 dihidroxinaftaleno
	100	100	87.5	
	50	100	75	
	25	100	68.75	

Tabla 4. Porcentaje de inhibición de los extractos contra el hongo *Colletotrichum gloeosporoides*

HONGO	CONCENTRACIONES (mg/mL)	% de inhibición		COMPUESTO
		24 h	96 h	
<i>Colletotrichum gloeosporoides</i>	140	100	100	Pirogalol
	100	100	100	
	50	100	100	
	25	100	100	
	140	100	87.5	2,7 dihidroxinaftaleno
	100	100	84.375	
	50	100	68.75	
	25	100	68.75	

Como se puede observar en las tablas de inhibición (tabla 3 y 4) el pirogalol a 96 horas de exposición inhibe en un 100 % a las dos cepas. Para el caso del 2,7-dihidroxinaftaleno, este compuesto no llega a la inhibición del 100 %, presentando mayor inhibición para la cepa del *Colletotrichum acutatum*, en la figura 3 se presentan las diferencias en el porcentaje de inhibición de las dos cepas ante el 2,7-dihidroxinaftaleno

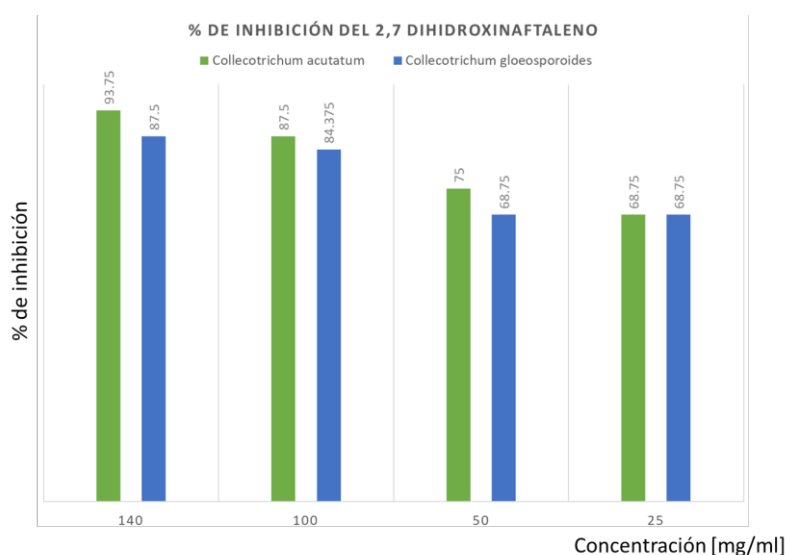


Figura 3. Porcentaje de inhibición del 2,7-dihidroxinaftaleno a 96 horas de tratamiento.

CONCLUSIONES

De los dos compuestos polifenólicos que fueron experimentados el 2,7-dihidroxinaftaleno fue el que presentó menos actividad antifúngica; es decir, presentando menor inhibición del crecimiento micelial en comparación con el pirogalol a las mismas concentraciones; cabe mencionar que ambos compuestos presentaron actividad antifúngica teniendo tomando como referencia el crecimiento del hongo en una muestra control.

BIBLIOGRAFÍA

1. Balderas, M. M. S.-, Lemus, O. Z.-, & Ortegón-, D. (2014). Los cocristales farmacéuticos: conceptos generales, 265–273.
2. Cáceres, I., León, R. De, Vargas, R. C., Muñoz, E. S., & Muñoz, L. N. (2014). Actividad Antifúngica in vitro de Extractos Acuosa de Especies contra *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Geotrichum*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 31(2), 105–112.
3. Rincón, L. E. C., M, B. L. H., N, J. S., Bustamante, S., & Buitrago, G. (2006). Crecimiento y Desarrollo de *Colletotrichum gloeosporioides* f. *alatae* Durante su cultivo en Medios Líquidos. *Acta Biologica Colombiana*, 11(1), 99–109.
4. Rodríguez-López, E. S., Manuel, J., Netzahualcoyotl, G., Nacional, I. P., Genómica, C. D. B., Mendoza, C. N., El, R. (2009). La Infección de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. en Aguacatero (*Persea americana* Mill.): Aspectos Bioquímicos y Genéticos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 27(1), 53–63. Disponible en: https://doi.org/http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092009000100007&lng=es&nrm=iso
5. Rojo-Báez, I., García-Estrada, R. S., León-Félix, J., Sañudo-Barajas, A., & Allende-Molar, R. (2016). Histopatología del proceso de infección de *Colletotrichum truncatum* en hojas de papaya y chicharo. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 316–325. Disponible en: <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1604-3>
6. Zavala, M. J., Tun, J. M., Crist, J., Ruiz, E., & Guti, O. (n.d.). Control Postcosecha de la Antracnosis en papaya y sensibilidad de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. *A FUNGICIDAS*, 11(2), 251–255.
7. Rodríguez-Maturino A., Troncoso-Rojas R. y Col. (2015). Efecto antifúngico de extractos fenólicos y de carotenoides de chiltepín (*Capsicum annum* var. *glabriusculum*) en *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum*. *Rev Argentina de Microbiología*, 47(1), 72–77.
8. Lauzardo, A. N. H., Baños, S. B., & Del Valle, M. G. V. (2007). Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30(2), 119–123. Disponible en: <https://doi.org/10.15446/av.enferm.v33n1.37514>
9. Soto, A. T., Martínez, M. H., Alejo, J. C., Hijo, R. R., Mora, G., Fitopatología, R. M. De, ... México-, C. (2002). Escala logarítmica diagramática de severidad de la mancha negra (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) en chirimoyo (*Annona cherimola* Mill.). *Revista Mexicana de Fitopatología*, 20(1), 103–109.
10. Villanueva-Arce, R., Aguilar-Pompa, C. A., Gómez y Gómez, Y. D. L. M., Valencia-Del Toro, G., Piña-Guzmán, A. B., & Bautista-Baños, S. (2013). Control de bacterias patógenas y hongos de postcosecha con extractos del pigmento de *Gibberella zeae* (*Fusarium graminearum*). *Agrociencia*, 47(7), 691–705.
11. Zavala, M. J., Tun, J. M., Crist, J., Ruiz, E., & Guti, O. (n.d.). Control Postcosecha de la Antracnosis en Papaya y Sensibilidad de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. *A FUNGICIDAS*, 11(2), 251–255.

EVALUACIÓN DE LA MORFOLOGÍA EXTERNA DE PINCTADA MAZATLANICA USANDO MORFOMETRÍA GEOMÉTRICA

Marcia M. Ramírez-Sánchez, Isaías H. Salgado-Ugarte, Zamira A. Ávila-Valle

Laboratorio de Biometría y Biología Pesquera, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM

RESUMEN

La almeja madreperla *Pinctada mazatlanica* se ha explotado con éxito en algunas regiones costeras de México, teniendo relevancia en su desarrollo económico. Los estudios biológicos en esta especie se han enfocado en evaluar cuestiones reproductivas, considerando variables como el tamaño, el peso y otras medidas corporales de los organismos; sin embargo, un análisis de sus características morfológicas externas no se ha realizado hasta la fecha. La morfología de los organismos responde directamente a la influencia de variables tanto intrínsecas como extrínsecas, por lo que su estudio permite responder diferentes preguntas biológicas, en este caso se trata de evaluar si la forma de los individuos de una población de *Pinctada mazatlanica* varía, cómo lo hace y si dicha variación puede relacionarse con alguna variable biológica o ambiental, con la finalidad de que esta información ayude a su mejor aprovechamiento como recurso económico. Los 213 individuos de *P. mazatlanica* incluidos en este análisis, fueron obtenidos de la pesca artesanal en la localidad de Puerto Ángel, Oaxaca. La cara interna de ambas valvas fue fotografiada para a partir de estas imágenes, extraer las variables de forma (coordenadas de marcas colocadas en la estructura biológica a analizar) de las valvas, lo cual se hizo colocando marcas a lo largo del contorno del área nacarada. Se realizaron análisis de componentes principales, de variables canónicas y una regresión multivariada, encontrándose que el tamaño explica casi el 14% de la variación en la forma de las valvas; la variación en la forma también parece estar relacionada con la ocurrencia de las temporadas de lluvias y de secas en la zona de estudio. Aunque los resultados son preliminares, confirman la utilidad de la metodología de la morfometría geométrica en *Pinctada mazatlanica*, para reconocer patrones de variación morfológica y su relación con otras variables.

INTRODUCCIÓN

La morfometría geométrica es un método de análisis cuantitativo de la forma que desde hace aproximadamente dos décadas ha cobrado gran relevancia para el análisis de la variabilidad morfológica de los animales, particularmente vertebrados, y su relación con una gran gama de aspectos biológicos, taxonómicos, evolutivos, ambientales, de distribución, entre otros (Aguilar-Medrano et al., 2011; Felice, 2014; Holmes et al., 2016; Voyta et al., 2013; Wanek y Sturmbauer, 2015). Los análisis de morfometría geométrica, por el contrario, han sido menos frecuentes en plantas e invertebrados, a excepción del Phylum Arthropoda (Bond y Beamer, 2006; Chazot et al., 2016; Francoy et al., 2011; Ramírez-Sánchez et al., 2016; Santamaría et al., 2016).

Los moluscos son un grupo bastante diverso en cuanto al número de especies, ambientes y hábitos que presenta, lo cual aunado a su importancia como recurso pesquero, lo convierten en un objeto de investigación que demanda un mayor número de estudios para evaluar la variación de la forma y que la correlacionen con diferentes factores biológicos. El exoesqueleto de los moluscos constituye una estructura excepcional para aplicar análisis de morfometría geométrica porque su forma no se pierde o altera debido a su manipulación o métodos de preservación y fijación y es usual encontrar colecciones importantes en algunas instituciones (Rufino et al. 2006; Zelditch et al., 2004). Por ejemplo en el Laboratorio de Biometría y Biología Pesquera de la FES Zaragoza UNAM se cuenta con una colección importante de conchas de algunas especies de moluscos en las que se han analizado aspectos como la edad, el crecimiento y la reproducción, entre ellas *Pinctada mazatlanica* que es objeto de estudio del presente trabajo (Guzmán-Urieta, 2015; Meléndez-Contreras, 2015). Examinar las características morfológicas de las valvas de esta especie desde el enfoque de la morfometría geométrica, permitirá: 1) establecer un patrón de variación morfológica en la población estudiada, 2) correlacionar la forma de la valva con su tamaño, 3) reunir información que aumente el número de caracteres externos con que se cuenta hasta la fecha, 4) establecer las bases para relacionar la variación morfológica con variables intrínsecas y extrínsecas a los organismos, tales como estado reproductivo, edad, temperatura ambiente, concentración de clorofila, entre otras.

TEORÍA

Los métodos de análisis morfométrico pueden dividirse en dos grandes rubros: la denominada morfometría tradicional, consistente en el análisis de distancias o medidas entre marcas (landmarks), y la morfometría geométrica, que es el análisis basado en coordenadas de marcas. La morfometría geométrica ha evolucionado a lo largo de aproximadamente dos décadas, siendo sus principales ventajas: 1) el poder separar el tamaño de la forma *per se* y 2) obtener una representación gráfica del cambio de forma por medio de las llamadas gradillas de deformación, cosa que es imposible con otros métodos (Adams et al., 2013). Las variables de forma que permiten realizar el análisis morfométrico de un conjunto de organismos, se obtienen a partir de las coordenadas de marcas que se colocan sobre las imágenes obtenidas usando un software particular como se explica más adelante. La forma de un organismo es definida por una colección de marcas (llamada configuración) cuyo número depende de la complejidad de la forma que se quiere representar. Cada marca de la configuración puede definir un carácter biológicamente homólogo o bien, una serie de marcas usarse para representar estructuras homólogas entre sí como curvas, superficies o contornos, en cuyo caso se denominan semimarcas (semilandmarks) (Zelditch et al., 2004). Antes de colocar las marcas, y sólo si va a compararse la forma de algún contorno, sobre todas las fotografías se colocan plantillas de líneas paralelas o formando un círculo, que al hacer intersección con un contorno, sirven de guía para colocar las semimarcas, para esto se utiliza el software MakeFan (IMP; Sheets, 2015).

Como se mencionó previamente, la morfometría geométrica ha tenido menos auge entre los malacólogos, no obstante, existe un número de trabajos que han buscado responder diferentes preguntas biológicas en especies de bivalvos, por ejemplo para estudiar la variabilidad geográfica de *Chamelea gallina* (Palmer et al., 2004) y la fenotípica de *Panopea globosa* (Leyva-Valencia et al., 2012) y para diferenciar especies de los géneros *Mytilus* (Innes y Bates, 1999) y *Panopea* (Leyva-Valencia et al., 2012).

En el género *Pinctada* existe un problema taxonómico importante debido a que las conchas de las diferentes especies son bastante similares entre sí y su clasificación se basa, por una parte, en los tejidos suaves, caracteres que se pierden o modifican con la fijación de los organismos, y por otra, en el color y forma de las valvas, caracteres que a veces dependen de la edad del individuo y de la plasticidad fenotípica del grupo (Cunha et al., 2011). *Pinctada mazatlanica*, es una especie que se distribuye desde el noroeste de México hasta el norte de Perú; en diferentes regiones y periodos históricos ha sido severamente sobre-explotada por su importancia en la producción de perlas y en menor grado, como recurso alimenticio, además de la afectación que sufre debido a la contaminación y alteración del hábitat (Arnaud et al., 2000; Solano et al., 1997). Los trabajos previos con *P. mazatlanica* se han enfocado en evaluar su condición reproductiva (Solano et al., 1997), su tasa de crecimiento y supervivencia en condiciones de cultivo (Monteforte y Morales-Mulia, 2000), su variabilidad genética (Arnaud et al., 2000), determinar la distribución y abundancia de la “semilla” (Bervera, 2002) entre otros. Generalmente, los trabajos relacionados con la reproducción de *P. mazatlanica* implican la obtención de variables morfométricas que permiten establecer el estado reproductivo de los individuos, tal es el caso del trabajo de tesis de Melendez (2015), que consistió en calcular el índice gonadal y así delimitar la época de reproducción de la especie. El trabajo de Saucedo et al. (1998) es uno de los pocos que puede considerarse morfométrico ya que aunque su objetivo fue definir el número, tamaño, forma y localización de los implantes para la producción de perlas, se basó en la evaluación de la relación entre las dimensiones de la concha de individuos cultivados, encontrando que los de tallas menores a los 80mm tienen un crecimiento isométrico mientras que los mayores lo tienen alométrico.

PARTE EXPERIMENTAL

Los individuos de *Pinctada mazatlanica* incluidos en este análisis se obtuvieron por pesca artesanal (buceo libre) en diferentes puntos de la localidad de Puerto Ángel, Oaxaca, México desde agosto de 2013 y hasta junio de 2015, completándose doce recolectas en total. El exoesqueleto de los individuos fue fotografiado con una cámara digital Nikon D3200, con lente macro, disparo a control remoto y soportada por un trípode; el lente se posicionó a una distancia constante de 130 cm de las valvas, las cuales se colocaron sobre una charola con arena o un cojín relleno con microperlas de poliestireno, con la finalidad de permitir que la abertura (vista interna) de las valvas fuera alineada

con la superficie de apoyo y con el plano de enfoque de la cámara (Fig. 1A). Las imágenes se obtuvieron de origen en formato JPG con calidad de 600 dpi.

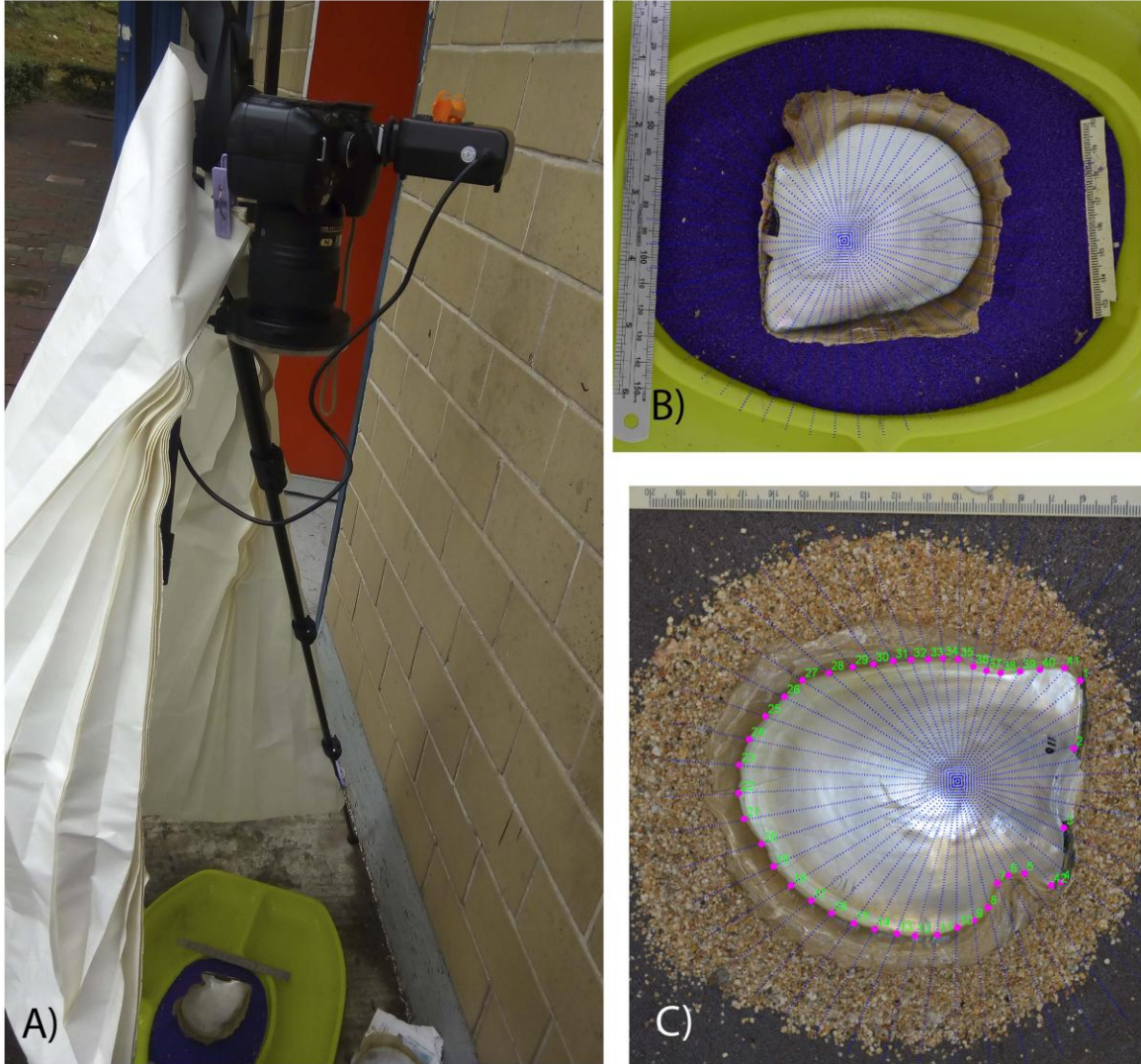


Figura 1. A) Disposición del equipo utilizado para obtener las imágenes de *Pinctada mazatlanica*. B) Colocación de plantillas de referencia para posicionar las semimarcas, consistentes en 50 radios concéntricos. C) Configuración de marcas utilizadas para describir la forma de *P. mazatlanica*.

Sobre las imágenes de las valvas izquierdas de 213 individuos, se colocaron círculos de 50 radios con el software MakeFan8 (IMP; Sheets, 2015) (Fig. 21B). La forma de la concha fue definida por medio de una configuración de 5 marcas: una sobre el seno bisal, una sobre el extremo de la aurícula anterior, dos sobre los extremos de la curvatura del ligamento y una más sobre el extremo de la aurícula posterior y 37 semimarcas, que describen el contorno del área nacarada de las valvas (Fig. 1C). Las coordenadas x y y de cada marca y semimarca se registró usando el programa TPSDig2.29 (Rohlf, 2017). Se eligió el área nacarada porque las valvas suelen ser muy frágiles y el contorno externo se altera fácilmente (Leyva-Valencia et al., 2012).

Las 213 configuraciones de coordenadas fueron sometidas a un análisis generalizado Procrustes usando el software CoordGen8 (IMP, Sheets, 2015), este proceso elimina la variación debida al tamaño, la posición y orientación de las imágenes sobre las que se registraron las marcas (Fig. 2A). Las semimarcas incluidas en las configuraciones, sólo varían en la dirección perpendicular al

contorno que definen, para eliminar la variación sobre la curva, fueron alineadas y confinadas a la misma usando el software Semiland8 (IMP, Sheets, 2015). Al mismo tiempo, 13 semimarcas fueron definidas como puntos de ayuda en el protocolo de deslizamiento, siendo así excluidas de los análisis estadísticos subsecuentes (Fig. 2B).

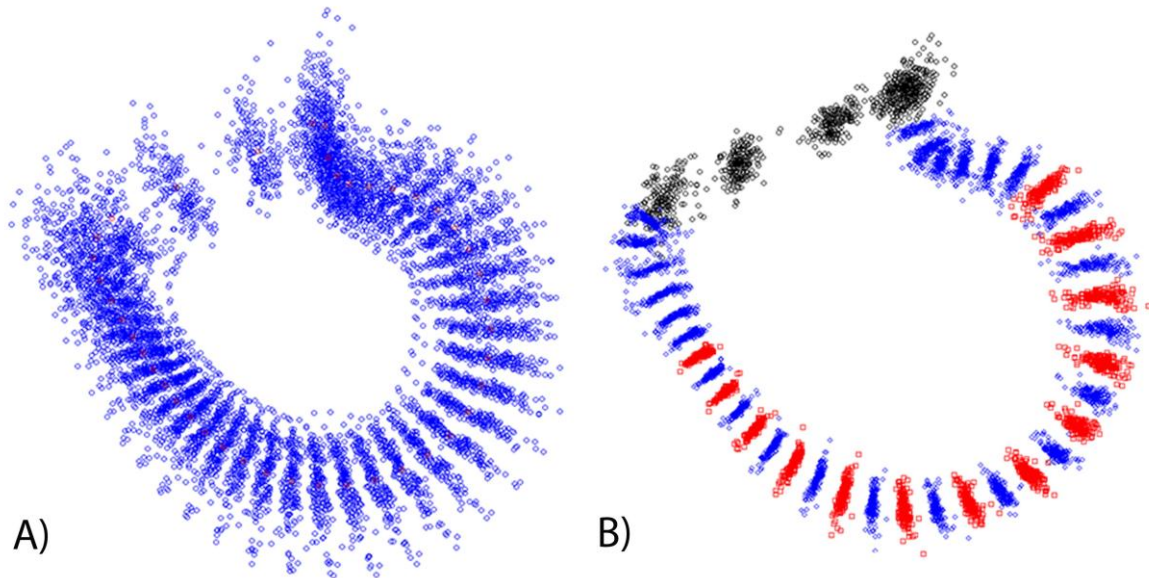


Figura 2. A) Análisis Generalizado Procrustes preservando el tamaño. B) Definición y deslizamiento de semimarcas. Los puntos en color negro quedaron definidos como marcas, los azules como semimarcas y los rojos como puntos de ayuda fueron eliminados de análisis estadísticos subsecuentes.

Se calcularon los *Partial warp scores* como descriptores de la variación de la forma, los cuales fueron evaluados con Análisis de Componentes Principales con PCAGen8 (IMP, Sheets, 2015) para observar los patrones de variación en la muestra, con Análisis de Variables Canónicas con CVAGen8 (IMP, Sheets, 2015) teniendo como grupos las fechas de recolecta y finalmente, con Análisis de Regresión con Regress8 (IMP, Sheets, 2015) para determinar si la forma de los individuos cambia en relación con el tamaño centroide que es una medida del tamaño de la configuración de marcas. En morfometría geométrica, las diferencias de forma entre un conjunto de organismos se mide con base en lo que se denomina distancia Procrustes, una vez hecha la superposición, las configuraciones de marcas se distribuyen en el espacio de la forma respecto a una configuración promedio llamada de referencia o consenso (podríamos pensar en ella como un organismo virtual que resulta de promediar la forma de todos los especímenes en la muestra); cada configuración (especimen) de la muestra se encuentra más o menos cerca de la forma consenso, dependiendo de qué tan similar o diferente es. En el caso del análisis de regresión, ésta se realiza asociando la distancia Procrustes con el tamaño centroide.

Las representaciones gráficas del cambio de forma se obtuvieron como gradillas de deformación (Thin Plate Splines) en los espacios de forma dados por los análisis correspondientes. En el caso del PCA y del CVA el cambio se presenta respecto a la forma consenso, que es la forma promedio calculada a partir de los 213 especímenes; en el caso del análisis de regresión el cambio de forma se grafica respecto al espécimen de menor tamaño. La dirección e intensidad del cambio se interpreta a partir de la deformación observada en la gradilla y de los vectores (flechas) que salen de cada marca.

RESULTADOS

El Análisis de Componentes Principales (PCA por sus siglas en inglés) se realizó tanto eliminando el tamaño de los individuos, representado en este caso por el tamaño centroide de la configuración

de 29 marcas, como dejándolo como una variable adicional. En el primer caso, se obtuvieron cinco eigenvalores significativos, con el primer componente explicando 38.29 % de la variación en la muestra, 20.19 % explicado por la segunda y 14.39 % por la tercera, para un total de 72.87 %. Se obtuvieron las gradillas de deformación para los tres primeros ejes respecto a la forma consenso. En el componente 1, el mayor cambio se observa en la articulación, la cual se desplaza hacia la región anterior, y en las regiones antero-ventral y antero-posterior de la concha, contrayéndose en el primer caso y expandiéndose en el segundo. Respecto al componente 2, el mayor cambio ocurre en las aurículas, las cuáles se expanden anterior y posteriormente, y en los extremos del ligamento, cuya parte anterior se expande y la parte posterior se desplaza hacia el centro de la configuración. En el caso del componente 3, el mayor cambio ocurre en la región anterior de la concha, la cual se expande cerca del biso y se contrae en la región antero-ventral (datos no mostrados).

Cuando el tamaño centroide fue incluido en el PCA se obtuvieron tres eigenvalores significativos, con el primer eje explicando 85.56 % de la variación, 5.72 % explicado por el segundo, 2.75 % por el tercero, 1.74 % por el cuarto y 1.3 % por el quinto. Debe tomarse en consideración que en este caso, todos los componentes incluyen tanto información del tamaño como de forma, pero el componente 1 es el que suele explicar mayor variación debida al tamaño, es por ello que en la gradilla de deformación correspondiente el cambio es prácticamente nulo (Fig. 3A). En el segundo componente, se observa que la articulación se desplaza anteriormente y que la región antero-ventral de la valva se expande (Fig. 3B). Respecto al tercer componente, los mayores cambios ocurren en la aurícula anterior y el biso que se desplazan anteriormente, en la parte ventral de la concha que se contrae y en la parte posterior de la articulación que también se contrae (Fig. 3C).

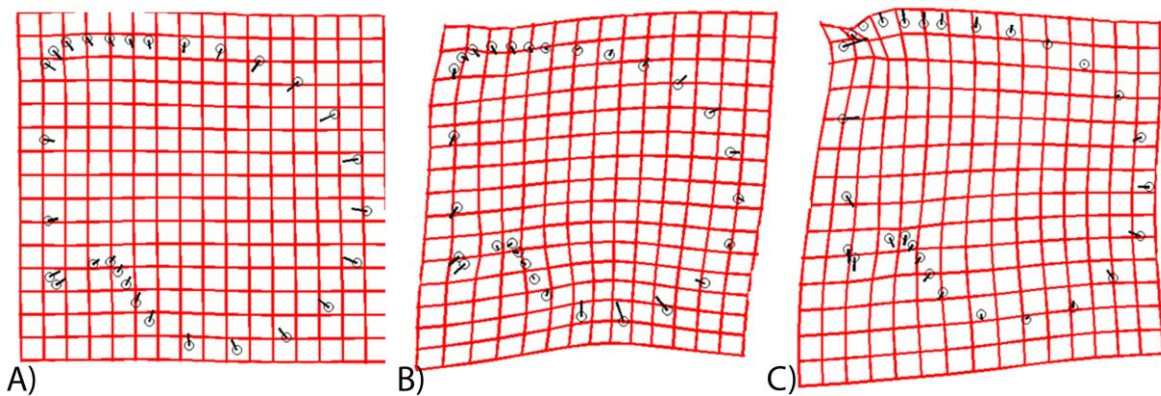


Figura 3. Gradillas de deformación en el espacio de los componentes principales preservando el tamaño: A) cambio de forma en el componente 1, B) en el componente 2 y C) en el componente 3.

Como resultado del Análisis de Variables Canónicas (CVA por sus siglas en inglés) sin incluir el tamaño centroide, se obtuvieron tres ejes significativos (Eje 1 $\Lambda=0.0143$, $\chi^2=760.0655$, $df=594$, $p=4.30465e-06$; eje 2 $\Lambda=0.0299$, $\chi^2=628.5473$, $df=530$, $p=0.00200437$; eje 3 $\Lambda=0.0546$, $\chi^2=520.4768$, $df=468$, $p=0.0468068$), esto implica que en la muestra hay cuatro formas diferentes de valvas. De las gradillas de deformación obtenidas para cada eje obtuvimos lo siguiente: en el eje 1 el cambio de forma se concentra en la aurícula posterior que se desplaza anteriormente y en la región anterior de la valva cercana al biso que se dirige posteriormente y se expande en la región antero-ventral. En la segunda variable canónica los mayores cambios ocurren en el biso y en el ligamento, el primero se desplaza posteriormente y el segundo hacia la región anterior. Finalmente, en el tercer eje canónico el mayor cambio ocurre en la parte dorsal de la valva que se desplaza anteriormente y en el ligamento que se expande dorsalmente (datos no mostrados).

Al incluir el tamaño centroide como variable en el CVA, se obtuvieron sólo dos ejes significativos (Eje 1 $\Lambda=0.0122$, $\chi^2=787.0825$, $df=605$, $p=7.75456e-07$; eje 2 $\Lambda=0.0280$, $\chi^2=637.9451$, $df=540$, $p=0.00227607$), con lo cual se diferencian tres formas de valvas en la muestra (Fig. 4A). En el primer eje canónico, los cambios ocurren principalmente en la aurícula

anterior que se desplaza anteriormente, la parte anterior de la valva adyacente al biso se dirige posteriormente, y la región anteroventral se dirige hacia afuera y luego hacia adentro del centro de la configuración; la parte posterior de la articulación se dirige posteriormente mientras que la aurícula posterior se desplaza hacia la región anterior de la valva (Fig. 4B). En la segunda variable canónica, el cambio ocurre particularmente en el biso que se acentúa y dirige posteriormente y en la parte posterior de la articulación que se dirige hacia la parte anterior de la concha (Fig. 4C). Respecto al tercer eje canónico, el cambio más grande ocurre en la región posterior de la valva que se dirige hacia adelante y en la articulación que se desplaza dorsalmente (Fig. 4D).

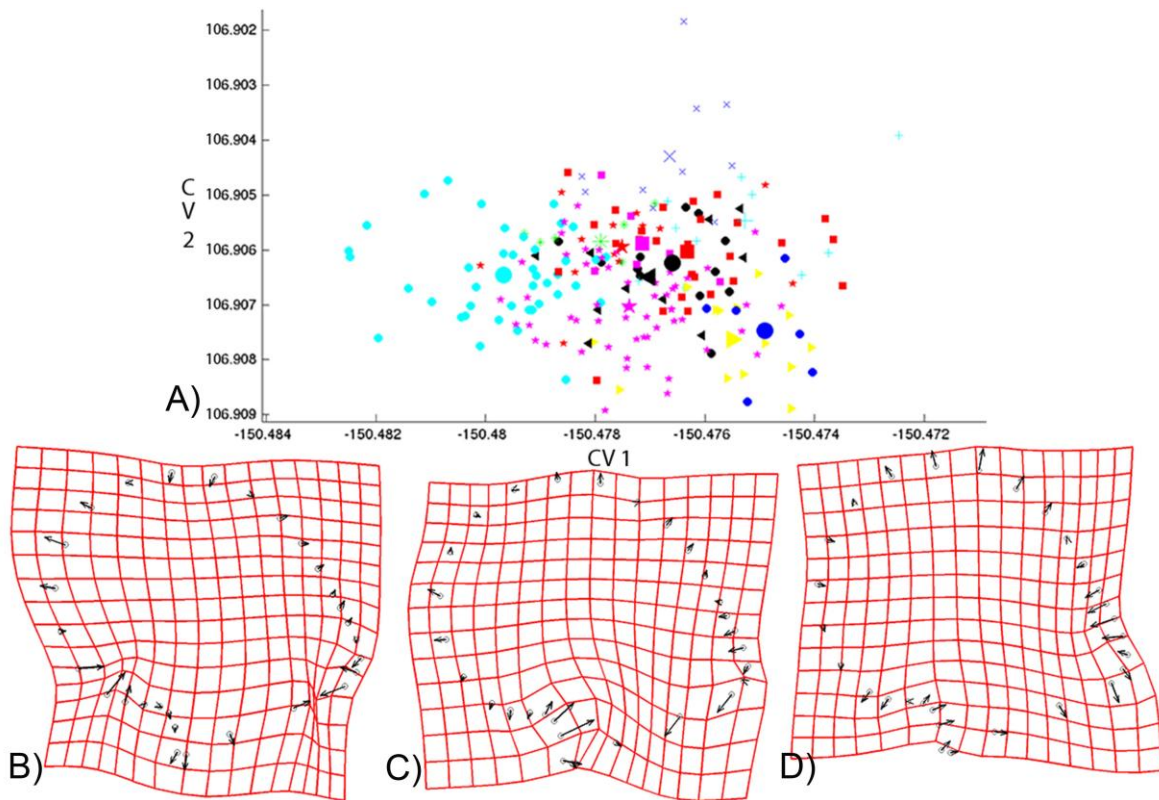


Figura 4. A) Gráfico de dispersión de los *scores* en las variables canónicas (ejes 1 y 2), mostrando la variación en la forma de 213 valvas izquierdas de *Pinctada mazatlanica* incluyendo el tamaño centroide. B) gradilla del cambio de forma explicado por la variable canónica 1, B) por la variable canónica 2 y C) por la variable canónica 3.

El análisis de regresión de las variables de forma (*partial warp scores*) sobre el tamaño centroide arrojó que mientras más grandes son los individuos más similares son entre sí, es decir, a medida que aumenta el tamaño centroide, la distancia Procrustes entre los individuos y la forma consenso disminuye (Fig. 5A). El porcentaje de variación en la forma explicado por el tamaño centroide es de 8.76 %; el porcentaje de variación obtenido fue remuestreado usando 100 repeticiones de Bootstrap (F de Goodall=20.248, df 1=54, df 2=11394, SS original=0.9341, SS remaining=0.8523, $p < 0.01$). En el espacio de la regresión tomando como referencia a los organismos de menor tamaño, los cambios de forma se relacionan con una expansión de la región posteroventral de la valva y un desplazamiento hacia el centro de la configuración de la región posterior adyacente a la aurícula (Fig. 5B).

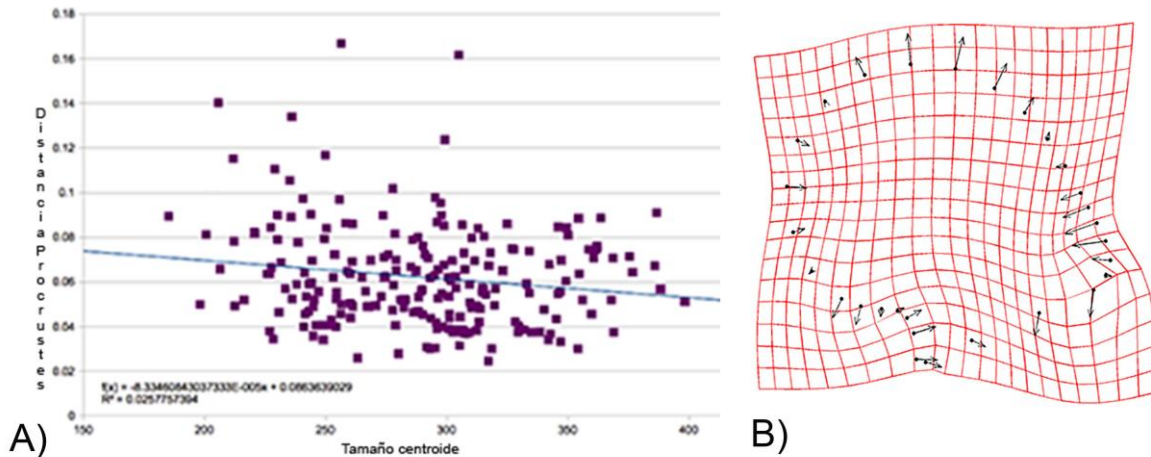


Figura 5. A) Regresión de la distancia Procrustes sobre el tamaño centroide de 213 valvas izquierdas de *Pinctada mazatlanica*. B) Gradilla de deformación en el espacio de la regresión multivariada de los partial warps sobre el tamaño centroide.

CONCLUSIONES

Resultado de este estudio pueden desarrollarse conclusiones en dos sentidos: el de la metodología y el del organismo objeto de estudio. En el primer caso, no por ser más importante, se prueba la utilidad de los análisis de morfometría geométrica para caracterizar cuantitativamente la forma, encontrar patrones de variación morfológica y establecer relaciones entre las variables de forma y otras variables, ya sea intrínsecas al organismo, como en este caso su tamaño, o extrínsecas. Como se mencionó en secciones previas, la morfometría geométrica permite separar por completo la forma del tamaño, en inglés de hecho se tienen dos términos *form* y *shape*, el primero hace referencia a la forma y el tamaño, que es lo que se obtiene con los análisis de morfometría “tradicional”, es decir, los basados en medidas, y *shape* se refiere a la información que queda después de eliminar toda la información referente al tamaño. Cuando inició el auge de la morfometría geométrica, se prefería ésta sobre la morfometría tradicional, pensándose que era un mejor o más ventajoso análisis. Sin embargo, el tiempo ha demostrado que, para algunas preguntas biológicas y algunos taxa, ambas aproximaciones son correctas y pueden incluso ser confirmatorias (Ramírez-Sánchez et al., 2016). Por ejemplo, en el caso estudiado en este trabajo, nuestros resultados confirman lo obtenido por Saucedo y colaboradores (1998) con análisis morfométricos basados en distancias respecto a *Pinctada mazatlanica*: que esta especie presenta un crecimiento alométrico, por lo menos en lo que respecta a los individuos de tallas grandes. En nuestro caso, no dividimos la muestra por tallas sino por fechas de recolección, lo cual puede reflejar hasta cierto punto la estacionalidad de la zona. Nos falta incluir datos ambientales en el análisis, pero dado que encontramos que en la muestra analizada existen por lo menos tres formas diferentes de valvas al agruparlas por fecha de recolecta, podemos inferir que alguna variable estacional podría estar afectando la forma de los organismos.

Nuestro trabajo muestra que es posible recuperar información valiosa que sirve de base para seguir respondiendo diferentes preguntas biológicas, sometiendo el exoesqueleto de especies de bivalvos y otros moluscos a análisis de morfometría geométrica basados en coordenadas de marcas.

BIBLIOGRAFÍA

1. D. C. Adams, F. J. Rohlf y D. E. Slice. “A field comes of age: geometric morphometrics in the 21st century”. *Ital. J. of Zool.*, 24, 2013, pp. 1-24.
2. R. Aguilar-Medrano, B. Frédérich, E. De Luna y E. F. Balart. “Patterns of morphological evolution of the cephalic region in damselfishes (Perciformes: Pomacentridae) of the Eastern Pacific”. *Biol. J. Linn. Soc.*, 102, 2011, pp. 593-613.

3. S. Arnaud, M. Monteforte, N. Galtier, F. Bonhomme y F. Blanc. "Population structure and genetic variability of pearl oyster *Pinctada mazatlanica* along Pacific coasts from Mexico to Panama". *Conserv. Genet.*, 1, 2000, pp. 229-307.
4. H. Bervera-León. "Distribución y abundancia espacio-temporal de la semilla de *Pinctada mazatlanica* (Bivalvia: Pteriidae) en la bahía de La Paz, Baja California Sur, México". Tesis de Maestría, Instituto Politécnico Nacional, México, 2002, 122 p.
5. J. E. Bond y D. A. Beamer. "A morphometric analysis of mygalomorph spider carapace shape and its efficacy as a phylogenetic character (Araneae)". *Invertebr. Syst.*, 20, 2006, pp. 1-7.
6. N. Chazot, S. Panara, N. Zilbermann, P. Blandin, Y. Le Poul, R. Cornette, M. Elias y V. Debat. "Morpho morphometrics: shared ancestry and selection drive the evolution of wing size and shape in *Morpho* butterflies". *Evolution*, 70, 2016, pp. 181-194.
7. R. L. Cunha, F. Blanc, F. Bonhomme y S. Arnaud-Haond. "Evolutionary patterns in pearl oysters of the genus *Pinctada* (Bivalvia: Pteriidae)". *Mar. Biotechnol.*, 13, 2011, pp. 181-192.
8. R. N. Felice. "Coevolution of caudal skeleton and tail feathers in birds". *J. Morphol.*, 275, 2014, pp. 1431-1440
9. T. M. Francoy, M. L. Grassi, V. L. Imperatriz-Fonseca, W. de Jesús May-Itzá y J. J. G. Quezada-Euán. "Geometric morphometrics of the wing as a tool for assigning genetic lineages and geographic origin to *Melipona beecheii* (Hymenoptera: Meliponini)". *Apidologie*, 42, 2011, pp. 499-507.
10. E. O. Guzmán-Urieta. Edad y crecimiento del caracol marino *Opeatostoma pseudodon* (Burrow, 1815) del litoral rocoso aledaño a Puerto Ángel, Oaxaca, México. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, México, 2015, 107 p.
11. M. W. Holmes, G. K. R. Boykins, R. C. K. Bowie y E. A. Lacey. "Cranial morphological variation in *Peromyscus maniculatus* over nearly a century of environmental change in three areas of California". *J. Morphol.*, 277, 2016, pp. 96-106.
12. D. J. Innes y A. Bates. "Morphological variation of *Mytilus edulis* and *Mytilus trossulus* in eastern Newfoundland". *Mar. Biol.*, 133, 1999, pp. 691-699.
13. I. Leyva-Valencia, S. T. Álvarez-Castañeda, D. B. Luch-Cota, S. González-Peláez, S. Pérez-Valencia, B. Vadopalas, S. Ramírez-Pérez y P. Cruz-Hernández. "Shell shape differences between two *Panopea* species and phenotypic variation among *P. globosa* at different sites using two geometric morphometrics approaches". *Malacologia*, 55, 2012, pp. 1-13.
14. M. A. Meléndez-Contreras. "Ciclo reproductivo de la madreperla *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856) en zonas del litoral rocoso adyacentes a Puerto Ángel, Oaxaca, México". Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, México, 2015, 86 p.
15. M. Monteforte y S. Morales-Mulia. "Growth and survival of the Calafia mother-of-pearl oyster *Pinctada mazatlanica* (Hanley 1856) under different sequences of nursery culture—late culture at Bahía de La Paz, Baja California Sur, Mexico". *Aquacult. Res.*, 31, 2000, pp. 901-915.
16. M. Palmer, G. X. Pons y M. Linde. "Discriminating between geographical groups of a Mediterranean commercial clam (*Chamelea gallina* (L.): Veneridae) by shape analysis". *Fish. Res.*, 67, 2004, pp. 93-98.
17. M. M. Ramírez-Sánchez, E. De Luna y C. Cramer. "Geometric and traditional morphometrics for the assessment of character state identity: multivariate statistical analyses of character state variation in the genus *Arrenurus* (Acari: Hydrachnidia, Arrenuridae)". *Zool. J. Linn. Soc.*, 177, 2016, pp. 720-749.
18. F. J. Rohlf. TpsDig, version 2.29. Stony Brook: Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook., 2017, Available at: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>
19. M. M. Rufino, M. B. Gaspar, A. M. Pereira y Paulo Vasconcelos. "Use of shape to distinguish *Chamelea gallina* and *Chamelea striatula* (Bivalvia: Veneridae): Linear and Geometric Morphometric Methods". *J. Morphol.*, 267, 2006, pp. 1433-1440.
20. P. Saucedo, M. Monteforte y F. Blanc. "Changes in shell dimensions of pearl oysters, *Pinctada mazatlanica* (Hanley 1856) and *Pteria sterna* (Gould 1851), during growth as criteria for Mabe pearl implants". *Aquacult. Res.*, 29, 1998, pp. 801-814.
21. H. D. Sheets. IMP8 series. Dept. of Physics, Canisius College, 2001 Main St. Buffalo, NY 14208, 2015, <http://www.canisius.edu/~sheets/morphsoft.html>

22. Y. Solano, J. Cabrera, J. A. Palacios y R. A. Cruz. "Madurez sexual, índice de condición y rendimiento de *Pinctada mazatlanica* (Pterioida: Pteriidae), Golfo de Nicoya, Costa Rica". *Rev. Biol. Trop.* 45, 1997, pp. 1049-1054.
23. L. L. Voyta, F. N. Golenishchev y M. P. Tiunov. Analysis of shape and size variation in the first lower molar in Far-Eastern grey voles of genus *Alexandromys* (Rodentia: Cricetidae) from Russian fauna using geometric morphometrics". *Russ. J. Theriol.*, 12, 2013, pp. 19-32.
24. K. A. Wanek y C. Sturmbauer. "Form, function and phylogeny: comparative morphometrics of lake Tanganyika's ciclid tribe Tropheini". *Zool. Scr.*, 44, 2015, pp. 362-373.
25. M. L. Zelditch, D. L. Swiderski, H. D. Sheets y W. L. Fink. "Geometric morphometrics for biologists". Elsevier, London, 2004, 443 p.

DISEÑO DE UN PROTOTIPO DE ELECTROCOAGULACIÓN PARA REMOCIÓN DE METALES PESADOS EN AGUA DE RIEGO

Edna Sofía Torres Hernández, Bernardo Gudíño Guzmán.

Departamento de Química, C.U.C.E.I, Lic. Química,
Universidad de Guadalajara. Blvd. Marcelino García Barragán No. 1421, Guadalajara, Jalisco,
C.P.44430, México.

edna_sth@hotmail.com^a, bernardo.gudino@academicos.udg.mx^b

RESUMEN

La electrocoagulación (EC) es una técnica electroquímica de remoción de contaminantes que ofrece innumerables ventajas sobre la coagulación química o convencional al no generar contaminación secundaria por subproductos, es económica en el sentido de no necesitar mayores recursos tecnológicos y normativos para su implementación. (Barrera Díaz, 2014) El sistema de electrocoagulación tiene gran importancia en la efectividad de remoción de contaminantes ya que algunos de los aspectos de diseño a tener en cuenta están relacionados con la celda, los electrodos, los materiales de este, la geometría y la disposición de los electrodos son fundamentales para que la aplicación de la electrocoagulación tenga resultados óptimos. (Arango Ruíz y Garcés Giraldo, 2007). Por ello, con base en la caracterización fisicoquímica de agua para remoción de sustancias tóxicas persistentes en agua de riego. Se diseñó un sistema de electrocoagulación para estudiar el comportamiento de los diferentes parámetros involucrados en la remoción de contaminantes. La investigación establece la geometría de la celda como de los electrodos usando electrodos de Hierro y Aluminio, materiales y tipo de conexión, adicionalmente determinar los parámetros eléctricos de la fuente de voltaje. La celda para electrocoagulación se diseñó considerando una distribución volumétrica que contempla tres regiones: una región superior para el depósito de los lodos de flotación o lodos menos densos y las espumas, llamada zona de flotación, una región media de reacciones electroquímica, llamada zona de reacción en donde se encuentran los electrodos y una región inferior, llamada zona de sedimentación donde se depositan los lodos de precipitación o lodos más densos. En cuanto a la eficiencia de la celda de electrocoagulación, se puede concluir que si se encuentra una disminución de concentración de los metales encontrados en el agua de riego.

INTRODUCCIÓN

La necesidad actual de proveer agua para una creciente población mundial, que satisfaga las demandas de agua potable, de aguas de riego y agua para la industria crea el reto de investigar y adaptar tecnologías que permitan la protección, conservación y recuperación del canal de La Aurora, el Salto, Jalisco. En este proyecto se plantea la electrocoagulación como una alternativa tecnológica para el tratamiento de aguas residuales, haciendo énfasis en su aplicación para la remoción de metales pesados.

Electrocoagulación

La coagulación asistida electroquímicamente, o electrocoagulación (EC), es un proceso electroquímico en el que, a partir de compuestos procedentes de la disolución de un ánodo, se agrupa la materia coloidal existente en un agua residual, lo que posibilita su conversión en sólidos suspendidos y su separación del agua mediante técnicas convencionales de separaciones sólido/líquido, tales como la decantación, la flotación y la filtración. Como consecuencia de su disolución, los ánodos van desapareciendo a medida que transcurre el tratamiento, llegando a un momento en el que es necesaria su posición (ánodos de sacrificio). (Barrera Díaz, 2014)

PARTE EXPERIMENTAL

Diseño, construcción y montaje del sistema de electrocoagulación.

El sistema opera como reactor tipo batch (por lotes) a escala laboratorio, tal como sugiere la literatura para la parte inicial de un proyecto de investigación para un efluente en particular (Piña-Soberanis et al., 2011). Consta de una celda electrolítica de dos litros en la cual están sumergidos seis electrodos, estos electrodos son placas rectangulares metálicas de hierro y aluminio dispuestas en paralelo, en forma monopolar y conectadas a una fuente de voltaje de corriente alterna, la corriente

eléctrica aplicada para la electrocoagulación en este caso es de 20V a un tiempo de 15 minutos y se tomó muestras cada tres minutos.

El diseño de la celda fue adaptado de (Arango Ruíz y Garcés Giraldo, 2007).

Para la construcción de la celda para el estudio de electrocoagulación se utilizó acrílico transparente, en forma de un paralelepípedo rectangular, con dimensiones de 16 cm de largo, 14.10 cm de ancho y 18 cm de alto, con tres divisiones:

- **Zona de reacción:** para la colocación de los electrodos y la toma de muestra (9 cm, intermedia)
- **Zona de sedimentación:** Para el asentamiento de lodos y sedimentos (4.5 cm, inferior)
- **Zona de flotación:** Para la recolección de espumas, con una compuerta deslizable (4.5 cm, superior)
- Se optó por modificar el prototipo (Figura 1), trasladando el orificio de toma de muestra a la parte media de la celda, buscando un mejor resultado de remoción de metales en el agua.

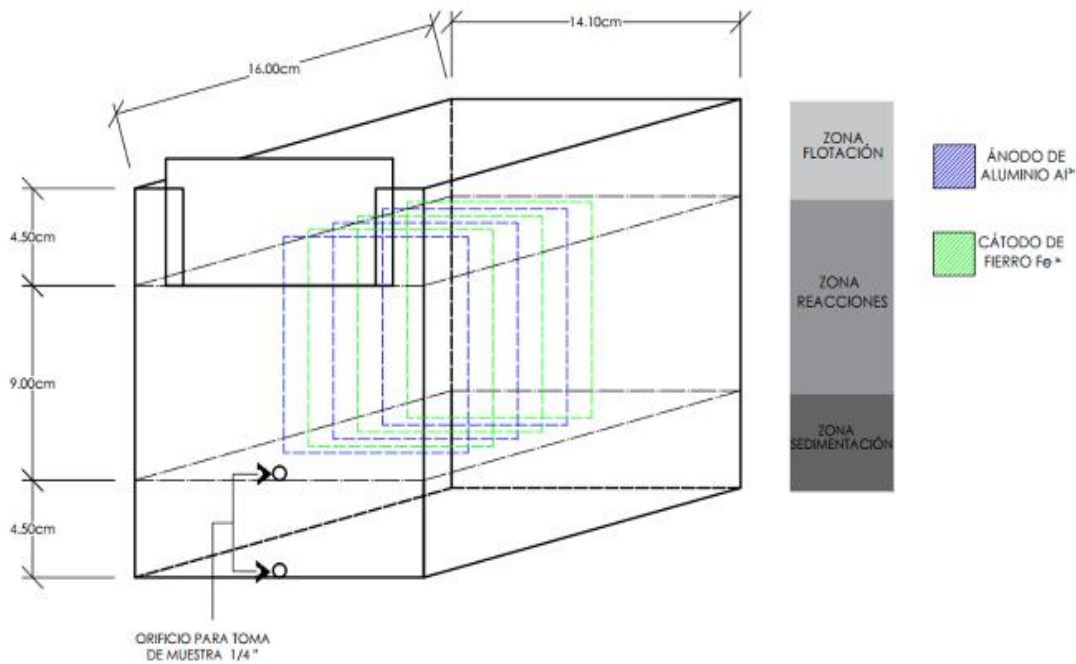


Figura 1. Prototipo 1 de celda de EC (Arango Ruíz, 2007).

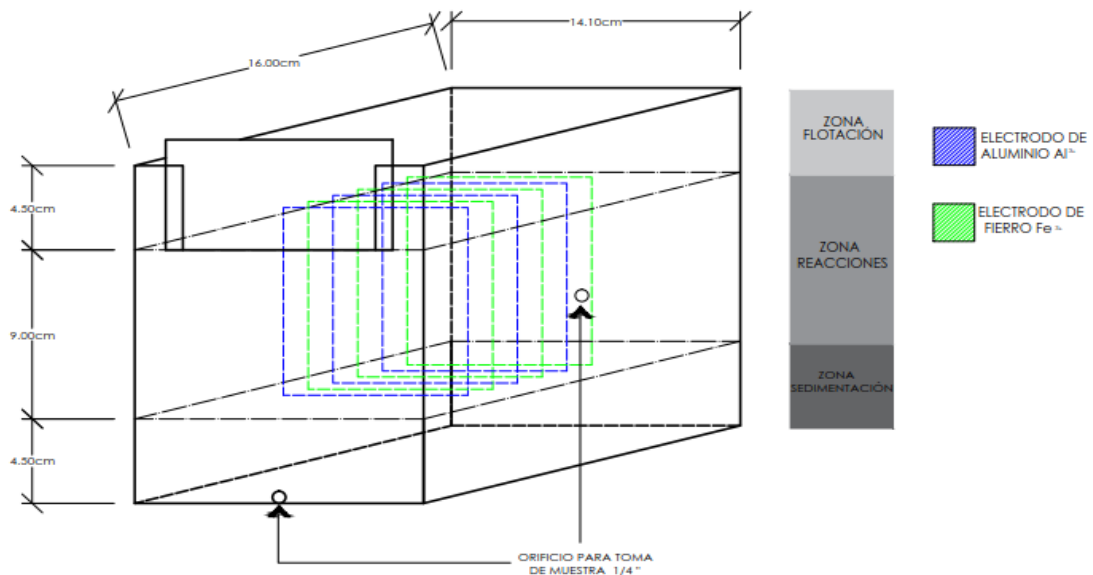


Figura 2. Prototipo 2 de celda de EC (Gudiño Guzmán. B. 2017)



Figura 3. Equipo para la experimentación de la EC a AC.

RESULTADOS

En el análisis de EC aplicando 20V durante 15 minutos, se tomó una muestra cada 3 minutos y se analizaron por medio de un polarógrafo y se obtiene una buena remoción de metales pesados. Presenta poca alteración de pH y Las reacciones presentes en el proceso de electrocoagulación:

	Sistema de EC-AC, ppb			
	Zn	Cd	Pb	Cu
Agua tratada	47.845	1.078	0.649	34.515
Agua sin tratar	281.32	1.415	97.98	33.13

Tabla 1. Remoción de metales pesados en agua. (EC)

	Sistema de EC-AC 20V	
	mL/2000mL	%
Espuma	65	3.25
Lodos	4.3	0.715

Tabla 2. Espumas y Lodos obtenidos después de dos litros de tratamiento.

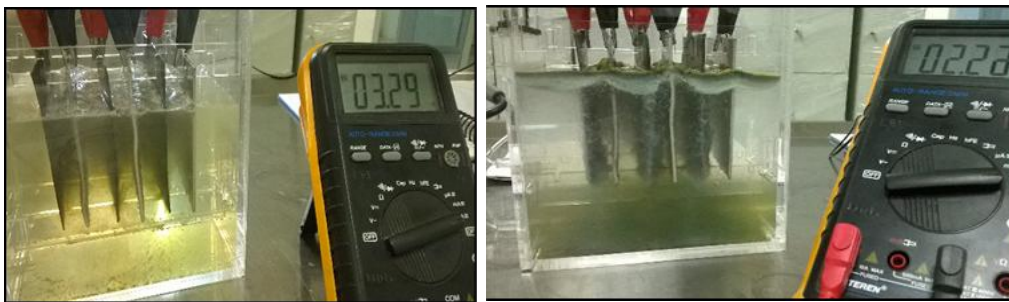


Figura 4. Tratamiento por ECAC. Lado izquierdo: agua sin tratar. Lado derecho: 15 min de tratamiento.

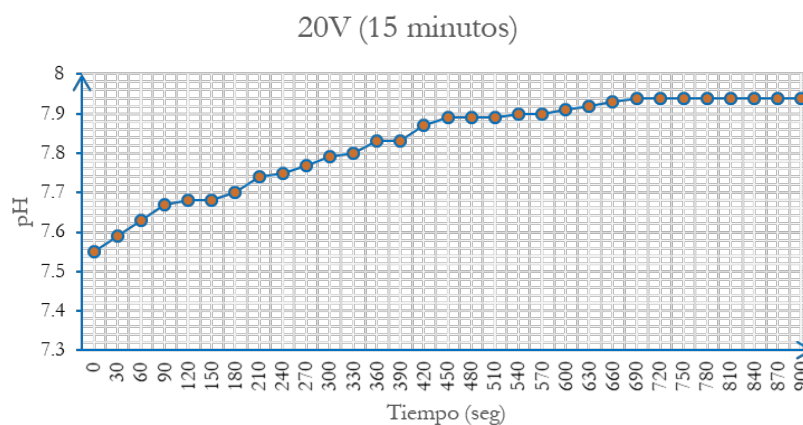


Figura 5. pH vs. Tiempo (Seg) AC20V

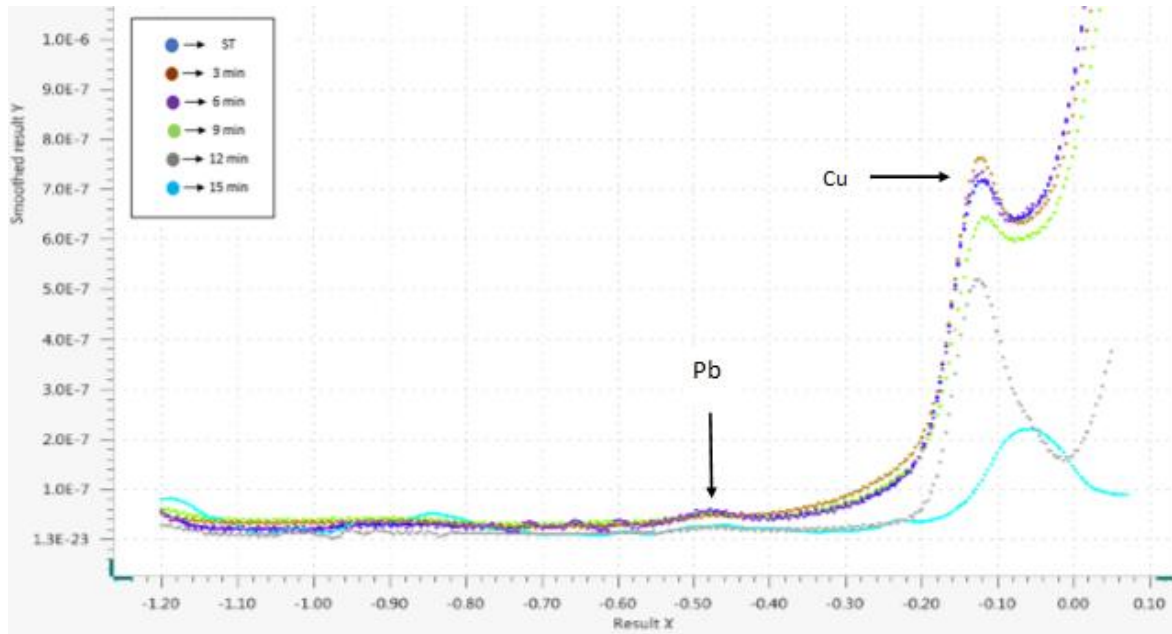


Figura 6. Voltamperogramas de redisolución anódica para el análisis de metales antes y después del tratamiento.

CONCLUSIONES

Se encontraron las condiciones óptimas de operación del prototipo las cuales fueron: Tipo de corriente aplicada (Alterna), Electrodo empleado (cátodo y ánodo). Se verificó una mejora organoléptica en el agua tratada. Se midieron las cantidades de lodos y espumas generados. Con las concentraciones obtenidas hasta este momento se puede concluir que el sistema de electrocoagulación presenta buenos resultados de remoción de metales pesados en agua, sin embargo, presenta un aumento sutil de pH.

BIBLIOGRAFÍA

1. Arango Ruíz, Á., y Garcés Giraldo, L. F. (2007). Diseño de una celda de electrocoagulación para el tratamiento de aguas residuales de la industria láctea. *Revista Universidad EAFIT*, 43, 56-67.
2. Carlos Eduardo Barrera Díaz, *Electrocoagulación, Aplicaciones electroquímicas de aguas residuales*, Revete Ediciones, México D.F, 2014. ISBN:978-6077815-13-6
3. Gudiño Guzmán. B. 2017. Evaluación del tratamiento por electrocoagulación para la remoción de metales pesados en el agua del canal "La Aurora". Juanacatlán, Jal. Universidad de Guadalajara, México.
4. Orozco Julio, Álvaro, La densidad de carga del electrolito como parámetro de control del proceso de electrocoagulación. En. *Revista Ainsa*. Vol.5 N° 2 (1985): p.3-30.

EXTRACCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS DE *PHYTOLACCA ICOSANDRA* FRENTE A MICROORGANISMOS PATÓGENOS PARA EL SER HUMANO.

Alejandrina Sánchez Cuenca¹, Ericka Santacruz Juárez¹, Gabriela Vargas Oliver², Jorge García Dávila¹, Alma Rosa Netzahuatl Muñoz¹ y Luis Alberto Santiago Santiago¹

¹Universidad Politécnica de Tlaxcala, ²Universidad Autónoma de Tlaxcala.
alejandrina.sanchez@uptlax.edu.mx

RESUMEN

El presente trabajo se realiza por la necesidad que tiene el ser humano de utilizar fuentes naturales que permitan tratar diferentes padecimientos sin utilizar medicamentos obtenidos de forma sintética, en especial los antibióticos, éstos fármacos utilizados de forma inadecuada puede ocasionar daño irreversible en los pacientes que cursen con enfermedades infecciosas. Derivado de estudios realizados, la especie *Phytolacca icosandra* es una planta que presenta propiedades espermicidas, moluciscidas, antiparasitarias, antimicrobianas, ha sido utilizada por los habitantes de la cabecera municipal de Tepeyanco, Tlaxcala para tratar afecciones de la piel de aves de traspatio. La muestra se recolectó en el municipio antes mencionado en el mes de julio, se extrajeron los metabolitos secundarios de hoja, tallo, fruto en modalidad seco y fresco por el método de Soxhlet utilizando diferentes disolventes (agua milli Q, metanol, etanol, diclorometano y acetona). Se elaboraron sensibilizados impregnados con extracto crudo para demostrar si existe actividad antimicrobiana para ello se utilizó el método modificado de Kirby Bauer (método de difusión en placa) y utilizando el Nefelómetro de McFarland para calcular el número de bacterias en soluciones de turbidez equivalente, según lo determinado por los recuentos en placa. Para realizar la prueba anterior se utilizaron las cepas ATCC *Staphylococcus aureus* 25923 y *Escherichia coli* 25922. Se observó actividad antimicrobiana de los extractos obtenidos utilizando como disolvente etanol en mayor porcentaje, seguido de metanol y agua milli Q. Se realizó la caracterización de los extractos crudos que presentaron actividad antimicrobiana por medio de cromatografía de gases acoplada a masas (CGM), identificando la presencia de ácidos grasos Metil éster ácido hexadecanoico, 1, 15 ácido pentadecanedioico, Metil éster 7,10,13-ácido hexadecatrienoico, en concentración mayoritaria en comparación con otros compuestos identificados.

Palabras clave: *Phytolacca icosandra*, metabolitos secundarios, actividad antimicrobiana.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de biomedicamentos a partir de extractos de plantas, la caracterización de sus principios activos por técnicas como cromatografía de líquidos, HPLC y Cromatografía de gases acoplado a masas (CGM), así como la evaluación de su actividad biológica con microorganismos patógenos, ha tenido gran importancia en los últimos tiempos derivado de que el hombre busca alternativas para tratar los padecimientos ocasionados por microorganismos patógenos.

Nombre científico: *Phytolacca icosandra*

Sinónimos: Nombres comunes utilizados en español: jaboncillo, mazorquilla, carricillo, namole, conguerán, quelite. (Herrera, A. 2011).

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Phytolacca icosandra*

Reino:	<i>Plantae</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Familia:	<i>Phytolaccaceae</i>
Tribu:	<i>Orchideae</i>
Subfamilia:	<i>Orchidoideae</i>
Filo:	<i>Tracheophyta</i>
Orden:	<i>Caryophyllales</i>
Género:	<i>Phytolacca</i>
Especie:	<i>P. icosandra</i>

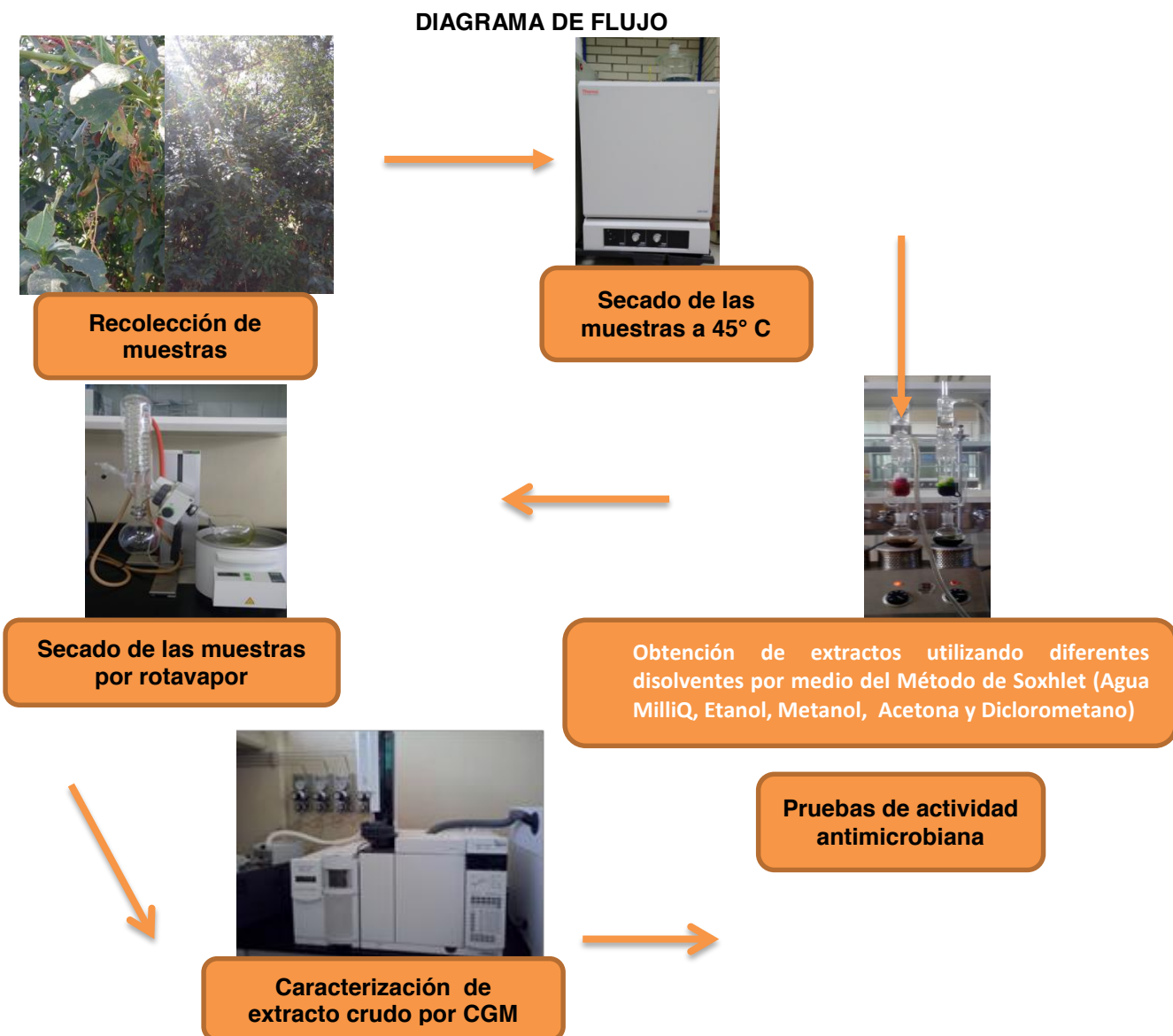
Fuente: (Galarraga, 2014)

Identificación y descripción

La especie vegetal *Phytolacca icosandra* es una hierba anual, glabra, robusta, succulenta; tallos hasta de 2 m de altura, ramificados, huecos, angulosos. Hojas con pecíolos de 1 a 6 cm de largo; lámina elíptica y ovado-elíptica, de 7 a 20 cm de largo y 2.5 a 9.5 cm de ancho, ápice agudo, base atenuada. Inflorescencia en racimos pedunculados, numerosos, axilares y terminales, de 8 a 15 cm de largo; raquis pubescente. Flores subsésiles; brácteas subuladas; tépalos verdosos, blancos o rojizos, elípticos a ovados, de 2.5 a 3.0 mm de largo y 1.5 a 3.0 mm de ancho, persistentes; estambres 8 a 20; ovario sub-globoso, con 6 a 10 carpelos, estilos encorvados. Fruto carnoso, globoso-aplanado, de 6 a 8 mm de diámetro, negro en la madurez. Semilla negra, brillante, de 2.5 mm de largo (Castillo Campos G, et al., 2011).

Características de la especie

Se ha evidenciado la presencia de saponinas, cumarinas, flavonoides, esteroides y terpenoides por medio de metodologías estándar de extractos. Aunque en las hojas se ha encontrado alta concentración de terpenoides y saponinas. La cromatografía de gases acoplada a masas ha identificado tres componentes presentes de tres ácidos grasos en elevada proporción los cuales son: 2-Pentadecanone, 6, 10, 14-trimetil pentadecanona (RT 10.3 min), Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester (RT 10.8 min) y Hexadecanoic acid ethyl ester (RT 11.2 min). (Hernández-Villegas, et al., 2012).



PARTE EXPERIMENTAL

La muestra se recolectó en el municipio de Tepeyanco, Tlaxcala. Se realizó el corte de la planta en su totalidad. Las muestras se conservaron en lugar fresco y seco. Se realizó separación de partes de la planta (hoja, tallo, flor, fruto verde, fruto maduro). Se almacenó la mitad de la muestra recolectada en fresco y la otra mitad se sometió a proceso de secado en horno de convección a 45°C durante 72 horas. Se pesó la muestra (hoja, tallo, fruto verde, fruto maduro, flor, *seco y fresco*). Se colocó cada una de las muestras en un cartucho, el volumen de disolvente utilizado para la extracción fue: 150 mL de disolvente (metanol, etanol, diclorometano, acetona, agua Milli-Q). Se concentró cada una de las muestras obtenidas de las diferentes partes de la planta con ayuda del rotavapor marca BUCHI, con la biblioteca incluida en el equipo, se programaron las condiciones en las que trabajó el mismo de acuerdo al disolvente utilizado en cada caso. Las muestras se almacenaron en viales a 4°C para utilizarlas posteriormente. Después de secar las muestras en rotavapor se colocó 200 µL del porcentaje total en viales para realizar las pruebas de cromatografía de gases acoplado a masas. El resto de las muestras se utilizó para realizar las pruebas de actividad antimicrobiana, los extractos se esterilizaron con luz UV durante 15 minutos los extractos obtenidos se procedió a impregnar los discos en concentración de 25 µl, 50 µl y 75 µl se secaron y mantuvieron en condiciones de esterilidad y oscuridad. Para la prueba de inhibición antimicrobiana se utilizaron cepas ATCC de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* utilizando agar nutritivo y agar Müller Hinton, éste último sirvió para realizar la prueba de sensibilidad antimicrobiana colocando los discos impregnados con el extracto correspondiente y un testigo basado en el método de Kirby Bauer, para realizar la propagación homogénea del microorganismo en la caja petri se utilizó el patrón 0.5 de McFarland y se dejaron en incubación durante 24 horas, obteniendo presencia de halos de inhibición como se muestra en la Tabla 2. El diámetro de inhibición de mayor tamaño de las placas inoculadas con las cepas ATCC utilizadas se muestra en la Tabla 3.

Tabla 2 Actividad antimicrobiana de los extractos obtenidos frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*

Parte de la planta	Disolvente utilizado para su extracción.	Microorganismo utilizado	Actividad antimicrobiana
Tallo fresco	Etanol	<i>Escherichia coli</i>	+
Hoja fresca	Etanol	<i>Escherichia coli</i>	+
Fruto inmaduro seco	Etanol	<i>Escherichia coli</i>	+
Fruto rojo fresco	Etanol	<i>Escherichia coli</i>	+
Tallo fresco	Metanol	<i>Escherichia coli</i>	+
Hoja seca	Metanol	<i>Escherichia coli</i>	+
Hoja fresca	Metanol	<i>Escherichia coli</i>	+
Fruto rojo seco	Metanol	<i>Escherichia coli</i>	+
Tallo seco	Agua milli Q	<i>Escherichia coli</i>	+
Tallo fresco	Agua milli Q	<i>Escherichia coli</i>	+
Fruto rojo fresco	Etanol	<i>Staphylococcus aureus</i>	+
Hoja fresca	Etanol	<i>Staphylococcus aureus</i>	+
Tallo fresco	Etanol	<i>Staphylococcus aureus</i>	+
Fruto verde seco	Etanol	<i>Staphylococcus aureus</i>	+
Hoja fresca	Agua milli Q	<i>Staphylococcus aureus</i>	+

Tabla 3. Diámetro de los halos de inhibición presentes a diferente concentración de extracto.

Parte de la planta	Disolvente utilizado	25 µl	50 µl	75 µl
<i>Escherichia coli</i>				
Tallo seco	Agua milli Q	4 mm	7 mm	10 mm
<i>Staphylococcus aureus</i>				
Fruto rojo fresco	Etanol	3 mm	4 mm	5 mm

De acuerdo al análisis realizado en el equipo de cromatografía de gases acoplado a masas, el cual tiene como fundamento "El análisis de muestras (solutos) de estado líquido convirtiéndolos a estado gaseoso en componentes individuales para su identificación" y a los tres tipos de detectores con los que cuenta el equipo (FID, TSD y ECD), nos da a conocer la presencia de compuestos que se muestran en la Tabla 4 y Tabla 5.

Tabla 4. Resultados del análisis por cromatografía de gases acoplado a masas de la muestra con mayor actividad antimicrobiana hacia *Staphylococcus aureus*

Etanol fruto rojo fresco				
PICO	RT	NOMBRE DEL COMPUESTO	PORCENTAJE	
1	2.524	O-Methylisourea	27.86569423	
2	2.931	3-Amino-2-oxazolidinone	1.142149443	
3	2.969	Propylene Carbonate	1.059584423	
4	3.027	Propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester	1.176551534	
5	3.159	1H-Pyrazole, 3,5-dimethyl-	3.247557451	
6	3.63	2-Furanmethanol	8.683087932	
7	3.916	1H-Imidazole, 4,5-dihydro-2-methyl-	1.898995459	
8	4.123	Butane, 1,1'-oxybis[3-methyl-	1.045823586	
9	4.181	1-Methyl-2-piperidinmethanol	1.709783955	
10	4.419	1H-Pyrazole, 1,3,5-trimethyl-	1.245355718	
11	4.843	Acetic acid, potassium salt	3.398926655	
12	5.621	2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone	2.624879593	
13	5.701	Butanal	2.01940278	
14	6.474	4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-	9.96628595	
15	6.681	Hexane, 1-propoxy-	1.162790698	
16	7.136	2-Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxymethyl)-	10.87450117	
17	7.66	1,2-Benzenediol, 3-methyl-	2.934498418	
18	7.988	2-Methoxy-4-vinylphenol	1.049263795	
19	9.392	Butanal, ethylhydrazone	1.296958855	
20	13.072	n-Hexadecanoic acid	3.849594055	
21	14.179	9,17-Octadecadienal, (Z)-	3.285399752	
22	16.371	Tetratriacontane	1.943718178	
23	16.487	Sulfurous acid, 2-propyl undecyl ester	5.397688179	
24	24.42	Morphinan-6-one, 4,5-epoxy-2-hydroxy-, (5.alpha.)-	1.121508188	

Tabla 5. Resultados del análisis por cromatografía de gases acoplado a masas de la muestra con mayor actividad inhibitoria hacia *Escherichia coli*.

TALLO SECO AGUA MILLI Q			
PICO	R.T.	NOMBRE DEL COMPUESTO	PORCENTAJE
1	3.466	Acetic acid, hydrazide	4.011667041
2	3.726	Pyridine	5.209782365
3	3.768	Acetamide	4.087951537
4	3.837	2,3-Butanediol	10.02019295
5	4.303	2-Propanone, dimethylhydrazone	2.324433475
6	5.029	2(R),3(S)-1,2,3,4-Butanetetrol	2.912272829
7	5.172	2-[3,4-Dichlorophenyl-4-[[[1-methyl-2-piperidyl]methyl]amino]-6-trichloromethyl-S-triazine	2.324433475
8	5.452	Oxazole, 2,4-dimethyl-	2.082118017
9	6.956	1,4:3,6-Dianhydro-.alpha.-d-glucopyranose	3.818712138
10	7.999	2-Methoxy-4-vinylphenol	3.212923491
11	8.253	Phenol, 2,6-dimethoxy-	2.544312318
12	8.82	1,4-Benzenediol, 2-methoxy-	3.45523895
13	10.361	1,3-Dioxolane-2-propanal, 2-methyl-	36.59860893
14	11.261	Allyl dithioisobutyrate	17.39735248

ANÁLISIS DE RESULTADOS

El análisis por GC-MS del extracto de fruto rojo de *Phytolacca icosandra* dió como resultado la identificación de 24 compuestos (Tabla 4). El O-Methylisourea (27.86%) fue identificado como el compuesto con mayor porcentaje presente en el extracto. Otros compuestos presentes en el extracto fueron el 2-Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxymethyl)- (10.87%) 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl- (9.96%), Sulfurous acid, 2-propyl undecyl ester (5.39%), n-Hexadecanoic acid (3.84%), Acetic acid, potassium salt (3.39%), 9,17-Octadecadienal, (Z)- (3.28%), 1H-Pyrazole, 3,5-dimethyl- (3.24%), 1,2-Benzenediol, 3-methyl- (2.93%) y otros 15 compuestos también fueron identificados.

El análisis por GC-MS de tallo seco de *Phytolacca icosandra* dió como resultado la identificación de 14 compuestos (Tabla 5). El 1,3-Dioxolane-2-propanal, 2-methyl- (36.59 %) fue identificado como el compuesto con mayor porcentaje presente en el extracto obtenido del tallo, otros compuestos presentes fueron el Allyl dithioisobutyrate (17.39%), 2,3-Butanediol (10.02%), Pyridine (5.2 %), Acetamide (4.08 %) y otros 9 compuestos más también fueron identificados.

La prueba de actividad antimicrobiana realizada utilizando cepas ATCC, da como resultado halo de inhibición de 10 mm utilizando 75 µl de extracto de tallo seco en cajas Petri con *Escherichia coli* y un halo de inhibición de 5 mm utilizando 75 µl de extracto de fruto rojo en cajas Petri con *Staphylococcus aureus*.

CONCLUSIONES

Con base al trabajo experimental se concluye que la especie *Phytolacca icosandra* si presenta actividad antimicrobiana frente a los microorganismos ATCC *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* utilizando diferentes concentraciones de extracto, cabe mencionar que existen diferentes condiciones que se deben controlar para que los extractos conserven su viabilidad y actividad biológica. El análisis cromatográfico de las muestras nos demuestra la presencia de compuestos de interés biológico, cabe considerar que en este estudio los ácidos grasos que nos menciona Hernández-Villegas, et al., 2012 que son el 2-Pentadecanone, 6, 10, 14-trimetil pentadecanona, Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester y Hexadecanoic acid ethyl ester, no están presentes en porcentajes elevados en nuestras muestras analizadas, aunque cabe considerar que se pudo demostrar la presencia de actividad antimicrobiana. Por lo que se puede concluir que la presencia

de 2 o más de los ácidos grasos mencionados anteriormente en los extractos de *Phytolacca icosandra* que se les ha conferido actividad antimicrobiana si llegan a presentar la misma y posiblemente la combinación con otros compuestos presentes potencialice esa actividad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Castro, A. J., Domínguez, F., Zapata Morales, J. R. (2015). Plants used in the traditional medicine of Mesoamerica (Mexico and Central America) and the Caribbean for the treatment of obesity. *Journal of Ethnopharmacology*, 175, pp. 335-345.
2. Castillo Campos G., Avendaño Reyes S., Acosta Pérez R., (2011). Catálogo botánico ilustrado de tepetates en Tlaxcala, pp.105
3. Galarraga, E., Amaro, J. M., Rojas, L. B., Mitaine-Offer, A. C., Lacaille-Dubai, M. A. (2014). Triterpenos y saponinas triterpénicas de *Phytolacca icosandra* y *Phytolacca rugosa*. *Revista Ciencia.*, 22(1), pp. 53-66.
4. Hernández Villegas, M. M., Borgez Argáez, R., Rodríguez Vivas, R. I., Torres Acosta J. F. J., Méndez González, M., Cáceres Farfán, M. (2012). In vivo anthelmintic activity of *Phytolacca icosandra* against *Haemonchus contortus* in goats. *Journal Veterinary Parasitology*, 189, pp. 284-290.
5. Hernández Villegas, M. M., Borgez Argáez, R., Rodríguez Vivas, R. I., Torres Acosta J. F. J., Méndez González, M., Cáceres Farfán, M. (2011). Ovicidal and larvicidal activity of the crude extracts from *Phytolacca icosandra* against *Haemonchus contortus*. *Journal Veterinary Parasitology*, 179, pp. 100-106.
6. Herrera Alvarenga, G. M. (2011). Comparación de tres concentraciones de las plantas medicinales: Ixmaxim (*Mychrossechium helleri*) y jaboncillo (*Phytolacca icosandra*) como efecto acaricida contra *Demodex canis* in vitro. Universidad San Carlos Guatemala. Tesis
7. Rzedowski, J., Calderon, G. (2000). Notas sobre el género *Phytolacca* (*Phytolaccaceae*) en México. *Acta Botánica Mexicana*, 53, pp. 49-66.
8. Sparg, S. G., Light, M. E. (2004). Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology*, 94, pp. 219-243.
9. Treyvaud, V., Marston, A., Dyatmiko, W., Hostettmann, K. (2000). Molluscicidal saponina from *Phytolacca icosandra*. *Journal Phytochemistry*, 55, pp. 603-609.

ESTUDIO TEÓRICO DE UN TAMIZ POROSO HIDROXILADO DE GRAFENO PERMEABLE A GASES PRESENTES EN EL GAS NATURAL

Edmundo Juan José Solís Quintanar, Francisco José Tenorio Rangel, David Alejandro Hernández Velázquez

Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara.

RESUMEN

A partir del siglo XXI, las aplicaciones de tamices moleculares en materiales con base en grafeno (MBG) han crecido enormemente, debido a que se han observado que pueden retener compuestos moleculares en su estructura. Además, el grado de retención en los MBG se puede modificar con la funcionalización del grafeno con grupos hidroxilos, permitiendo el paso libre a ciertas sustancias y reteniendo otras. Por otra parte, pese a que se sabe que los MBG presentan propiedades de permeabilidad, se desconoce cómo podrían ser las interacciones en estos materiales y mezclas de metano/mercaptanos presentes en el gas natural. En este trabajo se evaluó la permeabilidad y retención de un tamiz poroso hidroxilado de grafeno en la separación de metano de los mercaptanos mediante simulaciones de Dinámica Molecular. Se observó que en general los mercaptanos presentan una mayor afinidad hacia el tamiz en comparación al metano, produciendo la retención de los mercaptanos una vez que se ponen en contacto con el material. Además, se vio que el metano presenta un mayor flujo molecular respecto a los mercaptanos. Estos datos se analizaron mediante el cambio de la fracción molar, el perfil de la densidad, el desplazamiento cuadrático medio y el coeficiente de difusión.

INTRODUCCIÓN

Durante mucho tiempo se creyó que el diamante y el grafito eran las únicas formas alotrópicas del carbono. No fue sino hasta 1985 que se descubrieron los fullerenos, moléculas esféricas compuestas por anillos de cinco y seis átomos de carbono. Desde entonces se ha abierto un nuevo panorama para la química del carbono tal que en 1991, se sintetizaron por primera vez los nanotubos de carbono y en 2004, un equipo de investigadores dirigidos por Geim y Novoselov, obtuvo láminas de grafeno a partir de grafito. Las láminas individuales de grafeno están constituidas por anillos de seis carbonos que presentan una hibridación molecular sp^2 , por lo que presentan una geometría trigonal plana. Además, cada carbono está unido a otros tres, formando hexágonos que en conjunto crean una estructura ordenada y bidimensional. También, sobre la superficie de grafeno pueden presentar ciertos defectos y aberturas en su estructura, por lo que el dopaje y la funcionalización química son procedimientos relativamente fáciles de realizar.^{1,2} Debido a esto, a las láminas de grafeno se les han podido dar una gran variedad de aplicaciones.³ Algunas de ellas han sido como tamices capaces de retener compuestos moleculares dentro de su estructura.⁴

La habilidad de retención en el grafeno se debe a que sus láminas individuales presentan una densidad electrónica alta que impide el paso a las moléculas cuando se ponen en contacto con el material.⁵ Por otra parte, debido a la funcionalización y el dopaje, se ha podido ajustar el grado de permeabilidad en el grafeno, de manera que permite la permeabilidad a ciertas sustancias y retiene otras. En estos procesos se ven involucradas interacciones moleculares entre el grafeno y las partículas a tamizar como hidrofobicidad de las moléculas, cargas sobre la superficie del material, formaciones de enlaces y puentes de hidrógeno, atracciones y repulsiones debido a cargas coulómbicas y fuerzas de van der Waals, entre otras.⁶ Además, las características morfológicas del grafeno como la superficie del material, la porosidad, el área, la geometría, la disposición y los grupos funcionales influyen en el proceso de separación.⁷ En la literatura existen varios trabajos de grafeno y sus derivados enfocados en la tamización de compuestos.⁸ Algunos de ellos se han dedicado a estudiar el comportamiento de estos materiales en medios acuosos.⁹ De igual forma se han estudiado en estos compuestos, las características físicas y las interacciones moleculares responsables del proceso de separación en mezclas de agua y etanol,¹⁰ iones sodio y cloruro disueltos en medios acuosos,¹¹ gases como sulfuro de hidrógeno, monóxido de carbono, metano, dióxido de carbono, nitrógeno gas, metanotiol, entre otros.¹²⁻¹⁴ Por otra parte, las tecnologías de tamices de grafeno han presentado ventajas como su costo relativamente bajo de producción y una retención molecular alta.

La mayoría de los estudios experimentales omiten explicar la influencia del área del material tamizador, de los grupos funcionales y de las interacciones entre ellos y los compuestos a separar, lo cual da la pauta a que surjan estudios que, mediante el uso de herramientas computacionales, se analicen de forma teórica la difusión y separación de moléculas a través de láminas de grafeno que presentan poros y grupos funcionales. Debido a esto, el estudio de permeabilidad y retención de tamices porosos hidroxilados de grafeno con mezclas de gases como metano y mercaptanos presentes en el gas natural está lejos de considerarse completo.

El gas natural es una mezcla de gases que se encuentran en el subsuelo y es uno de los combustibles fósiles más importantes en la actualidad. Este gas se compone principalmente de metano, cuya concentración puede variar entre un 60 y un 90 por ciento. El resto de su composición consta de otros gases como hidrocarburos pesados, nitrógeno, dióxido de carbono, sulfuro de hidrógeno y mercaptanos. Éstos últimos se caracterizan por ser moléculas orgánicas, las cuales presentan azufre en su estructura y son muy reactivos. Algunos de los mercaptanos más simples son metanotiol, sulfuro de dimetilo, terbutiltiol y tiofeno. La fracción molar que corresponde a los mercaptanos puede considerarse pequeña, de alrededor de 4.09×10^{-6} , pese a lo cual, los mercaptanos presentan varios problemas debido a su alta reactividad, pudiendo corroer las tuberías por donde se transporta el gas natural, causando un impacto ambiental en el suelo y el aire.^{15,16} Sin embargo, los mercaptanos presentan usos industriales como precursores del ácido sulfúrico y como odorantes en el gas licuado para la detección de fugas de gases.

TEORÍA

Una de las técnicas que puede ayudar a observar el transporte de partículas gaseosas a través de materiales tamizadores para entender los procesos de permeabilidad y retención con una mezcla de gases, es la simulación mediante la Dinámica Molecular (DM). La DM es un método determinístico en el cual, a partir de una configuración de posiciones y velocidades de partículas que componen un sistema, se calculan las trayectorias de dichas partículas en un intervalo de tiempo, obedeciendo las leyes de la mecánica clásica. De esta forma, las simulaciones de DM pueden describir propiedades macroscópicas como la difusión de sustancias a través de una membrana porosa.¹⁷

Una simulación de DM conlleva varias clases de interacciones, las cuales se pueden agrupar en dos conjuntos: las interacciones intramoleculares (INTRA),¹⁸ aquellas debidas al movimiento interno de los átomos que componen una molécula y las interacciones intermoleculares (INTER),¹⁹ que son producidas entre átomos de diferentes moléculas. Las INTRA incluyen la vibración de enlace, que se da por la elongación del enlace químico que une a dos átomos. Esta interacción se puede calcular mediante un potencial armónico de la forma

$$V_d(\mathbf{r}_{ij}) = \frac{k_d}{2} (\mathbf{r}_{ij} - \mathbf{r}_0)^2 \quad [1]$$

Donde V_d es el potencial de enlace; k_d es la constante de fuerza de la rigidez de la distancia, \mathbf{r}_{ij} , entre los átomos i, j y \mathbf{r}_0 es la distancia de equilibrio entre dichos átomos. Por otra parte, es posible simular moléculas con distancias de enlaces fijas. Esto se logra agregando un término de fuerza a la ecuación de movimiento de los átomos dentro de la molécula, de manera que los átomos queden situados a una cierta distancia. En este trabajo se utilizó el algoritmo de fijación de enlace LINCS, por el término en inglés *LINear Constraint Solver*.²⁰ La segunda interacción de las INTRA corresponde a la vibración de ángulo de enlace, la cual también se puede evaluar con un potencial armónico que presenta la forma

$$V_\theta(\theta_{ijk}) = \frac{k_\theta}{2} (\theta_{ijk} - \theta_0)^2 \quad [2]$$

Donde V_θ es el potencial del ángulo de enlace; k_θ es la constante de fuerza de la firmeza del ángulo θ_{ijk} , que se forma entre los átomos i, j, k y θ_0 es el ángulo de equilibrio de dichos átomos. La tercera de las INTRA es la torsión del ángulo diedro y se puede determinar mediante una serie de Taylor del coseno del ángulo diedro truncada hasta el sexto término, como se muestra a continuación

$$V_{ad}(\phi_{ijkl}) = \sum_{n=0}^5 C_n (\cos \phi_{ijkl})^n \quad [3]$$

Donde V_{ad} es el potencial de torsión del ángulo diedro, C_n son constantes de fuerza que depende de la molécula de estudio y ϕ_{ijkl} es el ángulo diedro formado entre los cuatro átomos i, j, k, l . Por otra parte, es importante mencionar que en simulaciones de DM es posible representar un conjunto de átomos como una sola agrupación. En este estudio los hidrógenos y el carbono de la molécula de metano, se consideraron de forma implícita, de manera que tales átomos se modelaron como si fueran una sola partícula. Asimismo, este tratamiento se dio para los grupos metilos de los mercaptanos. Los parámetros utilizados en las ecuaciones [1] – [3] se presentan en las Tablas 1.1, 1.2 y 1.3.

Tabla 1.1 Parámetros de vibración de enlace

Molécula	Átomos		Constantes	
	i	j	b0 [Å]	kb [K]
Grafeno poroso hidroxilado	CO	O	1.364	45290377
	O	H	0.945	5565793
Parámetros de restricción de enlace				
Molécula	Átomos		Constante	
	i	j	b0 [Å]	
Grafeno poroso hidroxilado /Grafeno	C	C	1.40	
	CO	C	1.40	
Metanotiol	SC	HS	1.34	
	CS	SC	1.82	
Sulfuro de dimetilo	SC	CS	1.82	
Terbutiltiol	S	HS	1.34	
	CS	S	1.82	
	CH	CS	1.54	
Tiofeno	S	CH	1.71	
	CH	CH	1.40	

Tabla 1.2 Parámetros de vibración de enlace

Molécula	Átomos			Constantes	
	i	j	K	Ángulo	kθ [k]
Grafeno poroso hidroxilado	CO	O	H	113	35226
Metanotiol	HS	SC	CS	96	33830
Sulfuro de dimetilo	CS	SC	CS	99	45550
Terbutiltiol	HS	S	CS	96	33830
	S	CS	CH	114	62500

Tabla 1.3 Parámetros de ángulo diedro

Molécula	Átomos				Constantes					
	i	j	K	l	c0 [K]	c1 [K]	c2 [K]	c3 [K]	c4 [K]	c5 [K]
Grafeno poroso hidroxilado	C	CO	O	H	846.427	0.0	-846.427	0.00	0.00	0.00
Terbutiltiol	CH	CS	S	HS	0.00	0.00	0.00	400	0.00	0.00

El otro grupo de interacciones, las INTER, comprende atracciones y repulsiones producidas por fuerzas de van der Waals, las cuales se valoran por medio del potencial Lennard-Jones que posee la forma

$$V_{LJ} = 4\varepsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \quad [4]$$

donde ε_{ij} , σ_{ij} , r_{ij} , son la fuerza de atracción, la distancia en el cual la energía potencial es cero y la distancia entre los átomos i , j , respectivamente. Para las INTER entre átomos de diferente especie química, se utilizaron las reglas de combinación de Lorentz-Berthelot.¹⁸ Otra clase de INTER son aquellas atracciones y repulsiones entre átomos cargados eléctricamente. Tales interacciones se pueden estimar con el potencial de Coulomb, el cual tiene la forma

$$V_C = \frac{1}{4\pi\varepsilon_0} \frac{q_i q_j}{r_{ij}} \quad [5]$$

donde q_i y q_j representan las cargas de los átomos i , j , respectivamente y ε_0 es la constante de permeabilidad. Ahora bien, debido a que a cualquier distancia la contribución de la energía del potencial de Coulomb puede ser significativa, en este trabajo se empleó el método de las sumas de Ewald, el cual permite que la ecuación [5] converja para las interacciones de largo alcance.²¹ En la Tabla 2 se presentan las constantes de fuerza que fueron utilizadas en las ecuaciones [4] y [5].

Tabla 2. Parámetros de no enlace

Molécula	Etiqueta	(pseudo)- Átomo	Masa	Carga [e]	σ [Å]	ε [K]
Grafeno poroso hidroxilado	C	Carbono	12.011	0.00	3.55	35.24
	CO	Carbono	12.011	0.15	3.55	35.24
	O	Oxígeno	15.994	-	3.07	85.515
	H	Hidrógeno	1.008	0.435	0.00	0.00
Grafeno	C	Carbono	12.011	0.00	3.55	35.24
Metano	CH4	Metano	16.043	0.00	3.73	148
Metanotiol	HS	Hidrógeno	1.008	0.206	0.00	0.00
	SC	Azufre	32.065	-	3.62	232
	CS	Metilo	15.0347	0.171	3.75	98
Sulfuro de dimetilo	SC	Hidrógeno	32.065	-	3.58	199
	CS	Metilo	15.0347	0.150	3.75	98
	HS	Hidrógeno	1.008	0.206	0	0
Terbutiltiol	S	Azufre	32.065	-	3.62	232
	CS	Carbono	12.0171	0.171	6.4	0.5
	CH	Metilo	15.0347	0.00	3.75	98
	S	Azufre	32.065	0.00	3.6	180
Tiofeno	CH	Carbono	13.0251	0.00	3.69	50.5

Una vez que se evalúa la energía potencial debido a las INTRA e INTER, se simula el movimiento simultáneo de un número finito de partículas a través del cálculo de la fuerza que actúa sobre cada componente del sistema mediante al cambio temporal de la energía potencial. Después, se integran las ecuaciones de movimiento de Newton, las cuales proporcionan las trayectorias de las componentes en el sistema.^{22,23} Una vez conocidas las trayectorias, se analizan los resultados y se calculan las propiedades de interés. En este trabajo, para conocer y evaluar la eficiencia en la retención de mercaptanos y la separación del metano, se determinaron los siguientes parámetros: el cambio de la fracción molar en un intervalo de tiempo,²⁴ ecuación [6]

$$X_i = \frac{\text{moles del compuesto } i}{\text{moles totales}} \quad [6]$$

donde X_i muestra la fracción molar del compuesto i . El perfil de la densidad,²⁵ la cual se cuantifica mediante la fórmula de la densidad

$$\rho = \frac{m}{V} \quad [7]$$

donde ρ es la densidad, m la materia y V es el volumen. Por último, El desplazamiento cuadrático medio que se relaciona con el coeficiente de difusión.²⁵ Así, ambos parámetros se pueden calcular con la relación de Einstein, la cual presenta la forma

$$\lim_{t \rightarrow \infty} \langle [r_i(t) - r_i(0)]^2 \rangle = 6Dt \quad [8]$$

Donde r_i es la posición de la partícula i , $\langle [r_i(t) - r_i(0)]^2 \rangle$ representa el promedio del desplazamiento de dicha partícula con movimiento aleatorio, evaluada a un tiempo t y a un tiempo cero y D es el coeficiente de difusión.

METODOLOGÍA

i) Se crearon mezclas de mil partículas con metano (Met) y cada uno de los mercaptanos, metanotiol (M1), sulfuro de dimetilo (M2), terbutiltiol (M3) y tiofeno (M4), con una proporción de (7:3), (8:2) y (9:1). Además, las moléculas se colocaron de forma aleatoria. Para la creación del poro en la malla de grafeno, se removieron carbonos del centro de la malla dejando una geometría circular y en la periferia del poro se colocaron grupos hidroxilos, de forma que el Met pudiera pasar a través del poro, cuyo diámetro y área fue de aproximadamente 6 Å y 29 Å², respectivamente.

ii) Se definió el tamaño de celda del sistema en 34.5, 30.5 y 120 Å. En el centro, se colocaron dos mallas de grafeno poroso hidroxilado (GOH), con una separación entre ellas de 6 Å. Además, en el origen del eje z se agregó una lámina de grafeno que sirvió como tapa para encerrar la mezcla de metano/mercaptanos.

iii) Se estableció la temperatura de simulación del sistema a 300 K y se realizaron las simulaciones de DM aplicando las presiones de 1, 10, 20, 30, 40 y 50 bar sobre el eje z . Asimismo, se aplicaron condiciones periódicas de frontera en los tres ejes del sistema y el radio de corte se fijó a una distancia de 14 Å. Se simularon 4 ns en el ensamble isotérmico-isobárico utilizando el termostato de rescalamiento de velocidades²⁶ y el barostato de Berendsen²⁷ para el control de la temperatura y la presión, respectivamente. Posteriormente se tomó la última configuración de la simulación pasada y se simularon 6 ns en el ensamble canónico, empleando el termostato de Nosé-Hoover.²⁸ Para la realización de las simulaciones de DM se utilizó el programa GROMACS²⁹ versión 5.1.1.

iv) Una vez calculadas las trayectorias del sistema, se estimaron las propiedades de interés: el cambio de la fracción molar respecto al tiempo, los perfiles de la densidad, el desplazamiento cuadrático medio y el coeficiente de difusión en relación a las diferentes presiones simuladas.

RESULTADOS

Se observó en la mayoría de las simulaciones que el Met presentó un mayor flujo en comparación a los mercaptanos, desplazándose de la zona de mayor concentración hacia la zona de menor concentración, a través del tamiz de GOH, ver Figura 1. También se apreció que los mercaptanos M1 y M2, pueden atravesar el tamiz, aunque una vez que atravesaban la última membrana, éstos tendían a adherirse a la superficie de GOH. Además, se notó que la mayoría de los mercaptanos tienden a separarse del metano y que éstos prefieren situarse en las superficies del grafeno y del

GOH. La única excepción fue con la mezcla Met:M3, debido a que éstas moléculas siguieron mezcladas a lo largo de toda la simulación, lo que probablemente impidió la difusión de estos gases a través del tamiz.

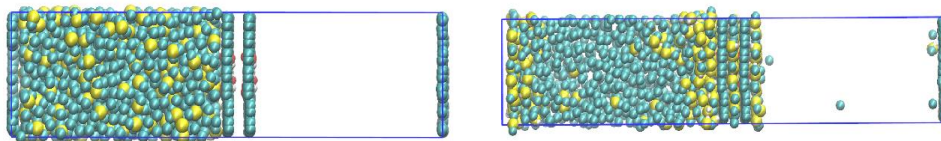


Figura 1. Estado inicial y final del sistema que contiene la mezcla Met:M1, a una concentración (7:3). Se nota que en el estado inicial, el mercaptano M1, esferas amarillas se sitúan en las superficies del GOH.

CAMBIO DE LA FRACCIÓN MOLAR

El cambio de la fracción molar ayudó a conocer la concentración de los mercaptanos en tres zonas que se definieron dentro del sistema, las cuales son: la zona inicio, donde se encontraba la mezcla de gases al inicio de la simulación, la zona tamiz, que representa el espacio entre las dos mallas de GOH y la zona adhesión, que comprende la superficie de la última lámina de GOH, ver Figura 2. La cuantificación de esta propiedad se realizó en el último nanosegundo de simulación. En la Tabla 3 se muestran los valores de la fracción molar de los mercaptanos a la concentración (7:3) en el último nanosegundo en el ensamble canónico.

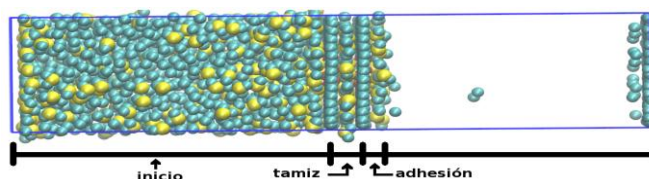


Figura 2. En la imagen se muestran las zonas de interés que se delimitaron para el cálculo del cambio de la fracción molar respecto al tiempo.

En la zona inicio se observa un decrecimiento significativo de los mercaptanos M1, M2 y M4, que probablemente sea debido a la alta afinidad de estas moléculas hacia el tamiz, lo que permitió que dichos mercaptanos se desplazaran de la zona inicio hacia las otras zonas del sistema. Para M3, se nota que no hubo diferencia en su cambio de la fracción molar y que por lo tanto, este gas permaneció en la zona inicio durante toda la simulación. En la zona tamiz, se ve que M1, M2 y M4 representan la mayor población molecular, posiblemente debido al fenómeno de retención ejercido por parte del tamiz y por lo tanto se puede inferir que el metano tiende a escapar de dicha zona. En el caso de M3, la fracción molar de este mercaptano indica que ocupa menos de la mitad del espacio comprendido entre las dos mallas de GOH y por ende el Met posee una mayor afinidad hacia esta zona. En la zona adhesión, se aprecia que M1 y M2 presentan la mayor población molecular, lo que confirma que dichos mercaptanos pueden atravesar el tamiz aunque una vez logrado esto, dichos gases se distribuyen a lo largo de la superficie de la última membrana de GOH. Para las moléculas M3 y M4, sus fracciones molares en la zona de adhesión son prácticamente nulas, indicando que estas moléculas no pasaron de la zona tamiz. Cabe señalar que para las mezclas a las concentraciones (8:2) y (9:1), los cambios de las fracciones molares de los mercaptanos mostraron las mismas tendencias vistas en la Tabla 3.

Tabla 3. Cambio de la fracción molar en los sistemas a la concentración (7:3)

zona	Mercaptano M1						
	Instante	1 bar	10 bar	20 bar	30 bar	40 bar	50 bar
inicio	Final	0.217	0.221	0.216	0.216	0.222	0.219
tamiz	Final	0.783	0.758	0.800	0.761	0.735	0.727
adhesión	Final	0.816	0.712	0.824	0.880	0.824	0.816
zona	Mercaptano M2						
	Instante	1 bar	10 bar	20 bar	30 bar	40 bar	50 bar
inicio	Final	0.252	0.245	0.248	0.244	0.251	0.253
tamiz	Final	0.675	0.722	0.671	0.680	0.661	0.674
adhesión	Final	0.642	0.721	0.664	0.773	0.744	0.717
zona	Mercaptano M3						
	Instante	1 bar	10 bar	20 bar	30 bar	40 bar	50 bar
inicio	Final	0.290	0.294	0.293	0.290	0.292	0.288
tamiz	Final	0.474	0.415	0.408	0.471	0.436	0.511
adhesión	Final	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Zona	Mercaptano M4						
	Instante	1 bar	10 bar	20 bar	30 bar	40 bar	50 bar
inicio	Final	0.255	0.260	0.271	0.264	0.272	0.267
tamiz	Final	0.738	0.781	0.635	0.769	0.713	0.673
adhesión	Final	0.118	0.000	0.037	0.009	0.010	0.053

PERFILES DE LA DENSIDAD

Los perfiles de la densidad indicaron de forma cualitativa las regiones del sistema en donde se situaban las moléculas. Así, en la Figura 5 se presenta un ejemplo representativo de la relación del perfil de la densidad de un mercaptano, línea marrón, con la longitud del eje z del sistema. En dicha imagen, las flechas rojas indican las regiones cercanas a las superficies del grafeno, del tamiz y el espacio entre las dos mallas de GOH en donde las moléculas del mercaptano tendrían a situarse. Entonces, para conocer el grado de retención de los mercaptanos debido al tamiz, así como las zonas donde éstos se posicionaron, se calcularon los perfiles de las densidades de M1, M2, M3 y M4 de las mezclas Met:M1, Met:M2, Met:M3 y Met:M4, respectivamente, a las concentraciones (7:3), los cuales se muestran en la Figura 6. Para los casos de M1 y M2 se aprecia que tienden a posicionarse en las regiones mostradas en la Figura 5. Por otra parte, el cuarto pico que se encuentra en la zona adhesión indica que dichos mercaptanos atravesaron la segunda malla de GOH para posteriormente distribuirse sobre la superficie de la lámina. Los perfiles de la densidad de M3 solo presentan dos picos que corresponden a la superficie del tamiz que se sitúa dentro de la zona inicio y el espacio entre las dos mallas de GOH, aunque este último pico es muy pequeño, lo que indica que hubo poca difusión de este gas hacia la zona tamiz. Por otro lado se nota una distribución de forma casi homogénea de M3 a lo largo de la zona inicio, por lo que esta molécula presentó una afinidad menor por las superficies del grafeno y del GOH en comparación a los otros mercaptanos. Para el mercaptano M4, se notan picos en la superficie del grafeno, en la cara del tamiz expuesta a la zona inicio y en menor medida dentro del tamiz. También se aprecia que a las presiones 20 y 50 bar, M4 se concentra en varias regiones en la zona inicio. En general debido a los picos muy pronunciados de los perfiles de la densidad de los mercaptanos M1, M2 y M4, se ve que estas moléculas forman aglomeraciones separándose del metano. Estos mismos patrones de los perfiles de la densidad, también se observan en los mercaptanos de las mezclas (8:2) y (9:1).

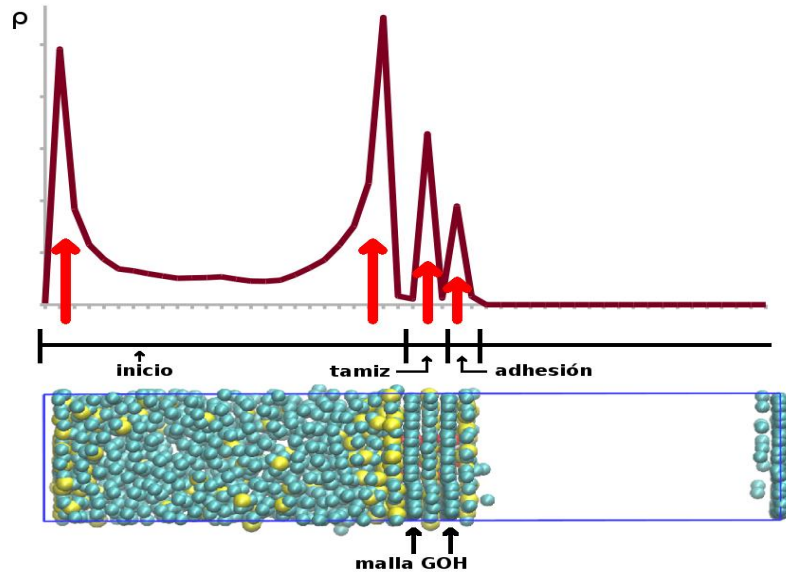


Figura 5. Relación del perfil de la densidad de un mercaptano con la longitud del eje z del sistema

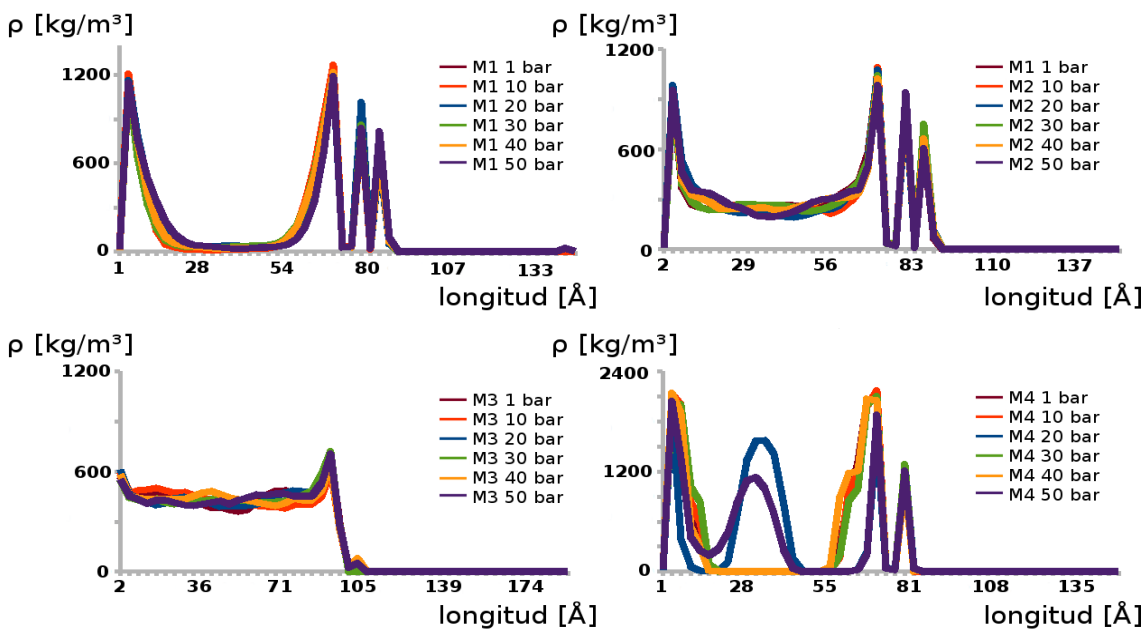


Figura 6. Perfiles de la densidad de M1, M2 M3 y M4 en las mezclas Met:M1, Met:M2, Met:M3 y Met:M4, a una proporción de (7:3).

DESPLAZAMIENTO CUADRÁTICO MEDIO

El desplazamiento cuadrático medio (DCM) mostró información de la difusión los gases estudiados. Así en la Figura 7 se presenta el DCM de las mezclas Met:M1, Met:M2, Met:M3 y Met:M4 a la proporción (7:3). Lo primero que se nota es que los DCM del Met presentan pendientes más inclinadas respecto al eje horizontal en comparación a los DCM de los mercaptanos. Además las rectas de los mercaptanos poseen casi el mismo patrón de movimiento, por lo que sus DCM son muy parecidos unos con otros. Una mayor inclinación del DCM indica que el movimiento molecular es mayor. Asimismo se observa que el metano presentó un mayor movimiento de difusión debido a su relativa facilidad para atravesar el tamiz de GOH. En cambio, por causa de la retención ejercida por el tamiz hacia los mercaptanos, las pendientes de las rectas de los DCM de dichas moléculas

son casi constantes y en el caso de M4, las pendientes del DCM se aproximan al valor de cero. Por otra parte, sólo a tiempos muy grandes se aprecia diferencias significativas del DCM para la mayoría de las moléculas estudiadas. Por último, los DCM de las mezclas a las concentraciones (8:2) y (9:1), son bastantes similares a los DCM presentados en la Figura 7.

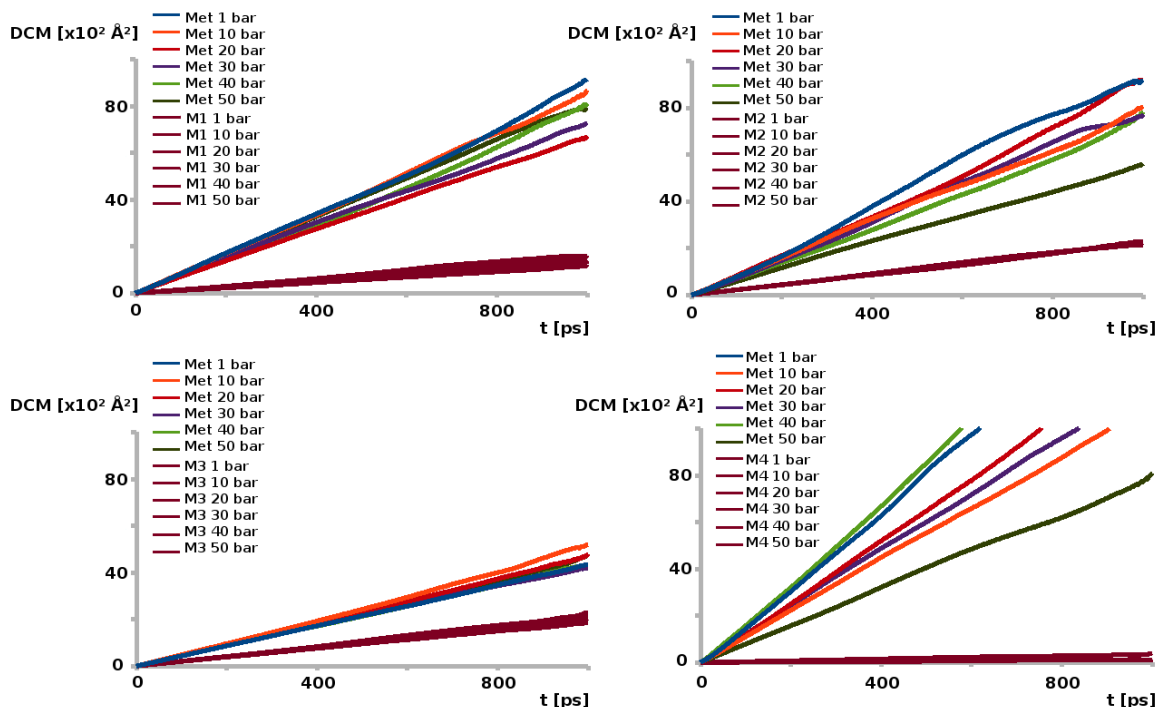


Figura 7. Desplazamiento cuadrático medio (DCM) de las mezclas Met:M1, Met:M2, Met:M3 y Met:M4, a una proporción de (7:3).

COEFICIENTE DE DIFUSIÓN EN RELACIÓN A LAS PRESIONES

El coeficiente de difusión (D) es una constante de proporcionalidad que describe la cantidad de materia que se difunde a través de una sección por unidad de tiempo y en la Figura 8 se muestran los D en relación a las presiones del metano y los mercaptanos a todas las concentraciones. Se observa en general que el metano presenta los D más grandes de todos los gases, en especial los valores del metano de la mezcla Met:M4. En el caso de la mezcla Met:M3, los D de M3 presentan los valores más grandes en comparación a los otros D de los mercaptanos restantes. Esto pudo haber sucedido debido poca afinidad de M3 hacia la malla de GOH y al alto movimiento molecular de este gas en la zona inicial del sistema, causando que el metano siguiera mezclado con este mercaptano a lo largo de la simulación y su vez el metano presentara los valores más bajos de D respecto a los otros valores del metano en las otras mezclas. También, se aprecia que los D de M4 son los valores más pequeños, probablemente debido a que esta molécula, al ser la más voluminosa de los mercaptanos haya tenido poco espacio para moverse.

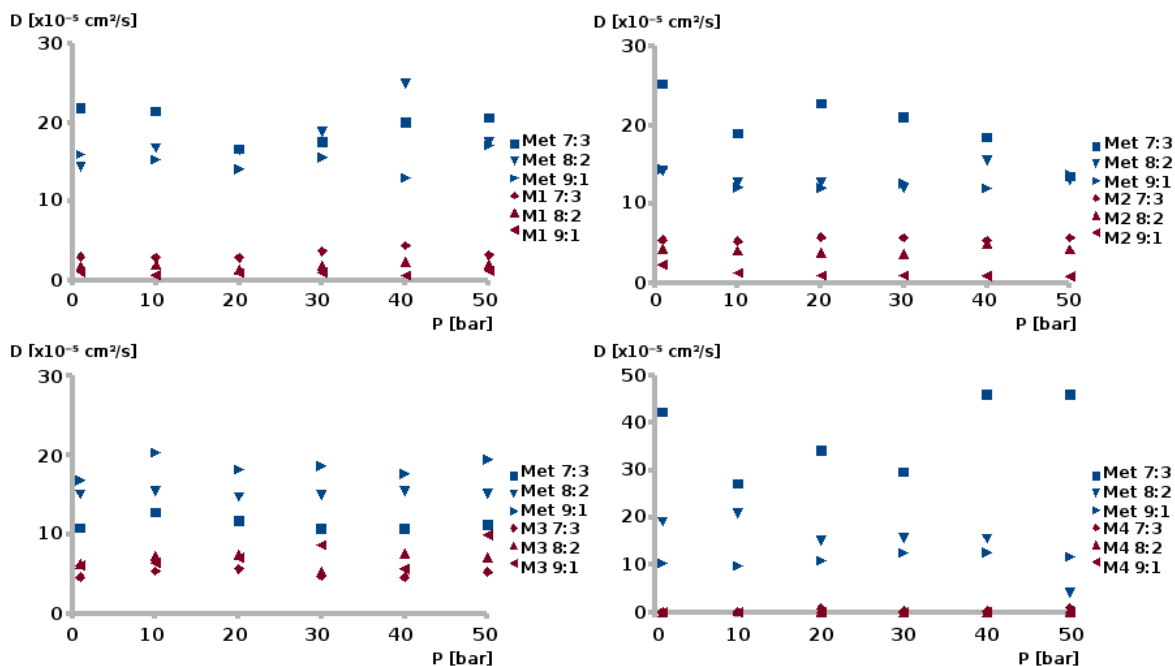


Figura 8. Coeficiente de difusión (D) en relación a las presiones simuladas.

CONCLUSIONES

La mayoría de los mercaptanos no son afines al metano, por lo que estos compuestos tienden a separarse uno del otro, a excepción de la mezcla Met:M3; esto se corroboró de forma visual y mediante los perfiles de la densidad de los mercaptanos. Con el cambio de la fracción molar se observó que la mayoría de los mercaptanos tienen a absorberse dentro del tamiz y a adherirse sobre la superficie de éste. Asimismo se infirió que el metano tiende a escapar fuera de las membranas de GOH debido a su difusión a través de éstas. Por otro lado, por medio de los perfiles de la densidad, se observó que los mercaptanos M1, M2 y en menor medida M4 se adhieren y se absorben al tamiz poroso hidroxilado de grafeno. Asimismo, dicho parámetro mostró que ninguno de los mercaptanos se difundió hacia la zona de menor concentración, debido a la retención ejercida por el tamiz. Por otra parte, los perfiles de la densidad del M3 denotaron que esta molécula no atravesó el tamiz y que tampoco presentó afinidad hacia éste.

Con el desplazamiento cuadrático medio y los coeficientes de difusión, se señaló que el movimiento molecular y el transporte de materia del metano es mayor en comparación a los mercaptanos, debido a la facilidad de desplazamiento del metano de una región del sistema hacia otra y que el movimiento, así como la difusión de los mercaptanos fueron menores al metano debido a la retención ejercida por GOH.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hirsch, A. *Nat. Mater.* 2010, 9 (11), 868–871.
2. Wang, X.; Shi, G. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2015, 17 (43), 28484–28504.
3. Dasari, B. L.; Nouri, J. M.; Brabazon, D.; Naher, S. *Energy* 2017, 140, 766–778.
4. Liu, G.; Jin, W.; Xu, N. *Chem. Soc. Rev.* 2015, 44 (15), 5016–5030.
5. Jiang, D.; Cooper, V. R.; Dai, S. *Nano Lett.* 2009, 9 (12), 4019–4024.
6. Ersan, G.; Apul, O. G.; Perreault, F.; Karanfil, T. *Water Res.* 2017, 126, 385–398.
7. Ambrosetti, A.; Silvestrelli, P. L. *J. Phys. Chem. C* 2014, 118 (33), 19172–19179.
8. Sun, P.; Wang, K.; Zhu, H. *Adv. Mater.* 2016, 28 (12), 2287–2310.
9. Wei, N.; Peng, X.; Xu, Z. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2014, 6 (8), 5877–5883.
10. Shi, Q.; He, Z.; Gupta, K. M.; Wang, Y.; Lu, R. *J. Mater. Sci.* 2017, 52 (1), 173–184.
11. Cohen-tanugi, D.; Grossman, J. *Nano Lett.* 2012, 12, 3602–3608.

12. Li, D.; Hu, W.; Zhang, J.; Shi, H.; Chen, Q.; Sun, T.; Liang, L.; Wang, Q. *J. Phys. Chem. C* 2015, *119* (45), 25559–25565.
13. Dong, G.; Hou, J.; Wang, J.; Zhang, Y.; Chen, V.; Liu, J. *J. Memb. Sci.* 2016, *520*, 860–868.
14. Taheri, A.; Babakhani, E. G.; Towfighi Darian, J. *Energy & Fuels* 2017, *31* (8), 8792–8802.
15. Sharifi, A.; Amiri, E. O. *Oil Gas Sci. Technol. IFP Energies Nouv.* 2017, *72* (24).
16. Golebiowska, M.; Roth, M.; Firlej, L.; Kuchta, B.; Wexler, C. *Carbon N. Y.* 2012, *50* (1), 225–234.
17. Hinchliffe, A. *Molecular modelling for beginners*; Wiley, 2008.
18. Cuevas, G. *Introducción a la química computacional*; Fondo de Cultura Económica, 2003.
19. Israelachvili, J. N. *Intermolecular and surface forces*; Academic Press, 2011.
20. Hess, B.; Bekker, H.; Berendsen, H. J. C.; Fraaije, J. G. E. M. *J. Comput. Chem.* 1997, *18* (12), 1463–1472.
21. Langridge, D. J.; Hart, J. F.; Crampin, S. *Comput. Phys. Commun.* 2001, *134* (1), 78–85.
22. Frenkel, D.; Smit, B.; Ratner, M. A. *Phys. Today* 1997, *50* (7), 66–66.
23. Engel, T. (Thomas); Reid, P.; Hehre, W. *Química física*; Pearson Educación, 2006.
24. Haile, J. M. *Molecular Dynamics Simulation: elementary Methods*; Wiley Professional Paperback Series, 1978.
25. Rapaport, D. C. *The art of molecular dynamics simulation*; Cambridge University Press, 2004.
26. Bussi, G.; Donadio, D.; Parrinello, M. *J. Chem. Phys.* 2007, *126* (1), 14101.
27. Berendsen, H. J. C.; Postma, J. P. M.; Van Gunsteren, W. F.; Dinola, A.; Haak, J. R. *J. Chem. Phys. Addit. Inf. J. Chem. Phys. J. Homepage* 1984, *81* (3684).
28. Hoover, W. G. *Phys. Rev. A* 1985, *31* (3), 1695–1697.
29. Hess, B.; Kutzner, C.; Van Der Spoel, D.; Lindahl, E. *J. Chem. Theory Comput.* 2008, *4* (3), 435–447.

RECUPERACIÓN DE NICOTINA A PARTIR DE COLILLAS DE CIGARROS OBTENIDAS DE ZONAS URBANAS

Ximena López Mexicano, Maribel Santiago Teodoro y José Roberto Contreras Bárbara.

Instituto Tecnológico de Atitalaquia

RESUMEN

Las colillas de cigarro a lo largo de los años han generado un gran impacto en suelos y aguas, debido a que estos residuos generalmente son arrojados directamente en éstos, provocando una problemática en el ambiente. Se ha encontrado que los cigarros contienen una infinidad de compuestos químicos tóxicos, siendo el componente mayoritario en las colillas de cigarro la nicotina. Es por ello que en este trabajo se realizó un estudio de la extracción de nicotina a partir de colillas de cigarro. Para la obtención de la nicotina se procedió a la recolección de las colillas, estas fueron sometidas a un proceso de limpieza, quitándoles la envoltura, y residuos de cenizas. En un recipiente se colocaron 500 mL de agua y 70 colillas de cigarro y fueron sometidas a agitación por dos horas a una temperatura de 85°C, con la finalidad de llevar a cabo la hidratación y así extraer la nicotina. Para la caracterización del producto obtenido en solución acuosa se utilizó espectroscopia de infrarrojo (FT-IR) para cuantificar la nicotina extraída y verificar que el producto sea el deseado. A partir de los datos obtenidos, se pudo comprobar que la extracción es viable con la metodología empleada, y de esta manera recuperar un producto a través de un desecho, el cual puede ser reutilizado para diversas aplicaciones como es inhibidor de plagas o anticorrosivo.

INTRODUCCIÓN

Actualmente más de 4000 millones de colillas acaban en los suelos de las ciudades de México, sin tomar en cuenta de que éstas provocan un gran daño al ambiente, ya que además de contener productos químicos tóxicos, muchos de ellos son los principales causantes de incendios forestales al ser arrojados a orillas de carreteras o campos con vegetación seca. Los mayores puntos de contaminación por colillas de cigarro son principalmente las zonas urbanas, calles, áreas verdes y casi cualquier sitio donde afectan no solo el paisaje sino que se acumulan en suelos y aguas superficiales.

En México las colillas ocupan el lugar número 7 en contaminación. (Alvarado, Osvaldo 2010). Sin embargo, hoy en día no se tiene alguna metodología viable para la recuperación de estos desechos y tampoco algún tratamiento para disminuir el impacto que generan los desechos de cigarro al ambiente. Las colillas de cigarro están consideradas como la basura más común en todo el mundo. Se ha estimado que cada año se desechan 767 millones de kilogramos de colillas de cigarrillo, esto es alrededor de 4.5 trillones de colillas (Tandale, 2012). Cuando un filtro llega a los ríos y mares, y hace contacto con el agua, todos los residuos peligrosos son soltados. Y es importante mencionar, que una colilla puede llegar a contaminar hasta 50 litros de agua y que además esta puede tardar de 2 a 10 años en degradarse (Tandale, 2012).

Se ha encontrado que el componente mayoritario de las colillas de cigarro es la nicotina. La nicotina es un alcaloide contenido en forma natural en las hojas de Tabaco (*Lobelia Nicotine*) la cual es una planta cultivada principalmente por su alto valor comercial. Las hojas procesadas de esta planta son consumidas mediante inhalación a través de productos como los cigarrillos, esta forma representa el 95 % de su consumo. Se han identificado unas 4 000 estructuras moleculares en el humo de tabaco, siendo la nicotina la de mayor concentración y es por tanto, la estructura responsable de la adicción de tabaco al absorberse rápidamente en la mucosa nasal produciendo efectos somáticos tales como elevación de la frecuencia cardíaca y aumento de la presión arterial. En la actualidad la nicotina representa también un problema medioambiental a nivel global ya que en el consumo de tabaco normalmente no se tiene un adecuado manejo de residuos como las colillas cigarro las cuales contienen una cantidad importante de nicotina y otros compuestos hidrosolubles además de metales como plomo, cadmio y arsénico los cuales al ser absorbidos por el agua y el suelo generan un ambiente potencialmente tóxico.

La nicotina aislada se ha empleado como anticorrosivo (Zhao et al., 2010), se ha propuesto como agente inhibidor de plagas y en aplicaciones veterinarias como un antiparasitario externo (Cheverra, et al., 2016), sin embargo, la producción de nicotina a partir de la planta del tabaco o en forma

sintética representa un mercado económicamente inviable ya que la producción de tabaco se destina casi en su totalidad a la producción de cigarrillos.

En la actualidad se han realizado investigaciones que evalúan la extracción de nicotina a partir de desechos de colillas de cigarro (Zhao et al., 2010; Cheverra, et al., 2016), sin embargo, la información acerca de los parámetros de extracción como el tiempo de retención, temperatura y polaridad del solvente empleado, resulta muy escasa. Por lo tanto, la presente investigación tuvo como propósito la evaluación en los parámetros de extracción de nicotina a partir de colillas de cigarro y la realización de una estimación en el impacto ambiental que origina la contaminación de agua y suelo. En relación con la estrategia experimental, se evaluaron los parámetros de extracción de nicotina a partir de colillas de cigarro, se obtuvieron soluciones concentradas de nicotina a partir de diferentes medios de extracción y para la identificación de los grupos funcionales presentes en la molécula se empleó espectroscopia de infrarrojo (FT-IR).

TEORÍA

La cantidad de fumadores, estimada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) es alrededor de 1,300 millones de personas que consumen tabaco; de los cuales casi 1,000 millones son hombres y 250 millones son mujeres. Los productos derivados del tabaco, cigarrillos con mayor frecuencia, han venido incluyendo más y más aditivos en las últimas décadas. Se añaden sustancias para preservar la humedad y conservantes, así como una gran gama de saborizantes y otros químicos que modifican las propiedades del tabaco y la experiencia de fumar. Se estima que el 50 por ciento del cigarrillo está compuesto por hojas de tabaco, el 30 por ciento por tabaco reconstituido y el 20 por ciento por tabaco expandido con dióxido de carbono. Los filtros de las colillas, la parte más tóxica del cigarrillo, está compuesta principalmente por acetato de celulosa, un material no biodegradable cuyo efecto sobre el medio ambiente puede prolongarse durante 25 años (Novotny, 2009). Además, según un informe elaborado por las universidades de California y San Diego, algunas de las sustancias tóxicas que perviven en una sola colilla, como la nicotina y el alquitrán, pueden llegar a contaminar hasta 50 litros de agua. Los filtros elaborados a base de acetato de celulosa retienen parte del alquitrán, estos no son degradables representan una fuente importante de contaminación a nivel mundial. Un estudio realizado por la Universidad de San Luis muestra que los filtros tienen altas concentraciones de cadmio, los cuáles en altas concentraciones son nocivos para la salud.

PARTE EXPERIMENTAL

En la primera etapa para la extracción de la nicotina se procedió con la recolección de la materia prima. Las colillas recolectadas fueron sometidas a un proceso de limpieza, en el cual se buscó eliminar impurezas, como son residuos de ceniza y material del suelo. Para llevar a cabo la extracción, las colillas fueron puestas en un recipiente de 500 mL de agua, se sometió a una temperatura, aproximadamente a 85 °C donde se hidrataron en promedio 70 colillas de cigarro por 2 horas para la extracción de nicotina. Tal como se muestra en la Figura 1.

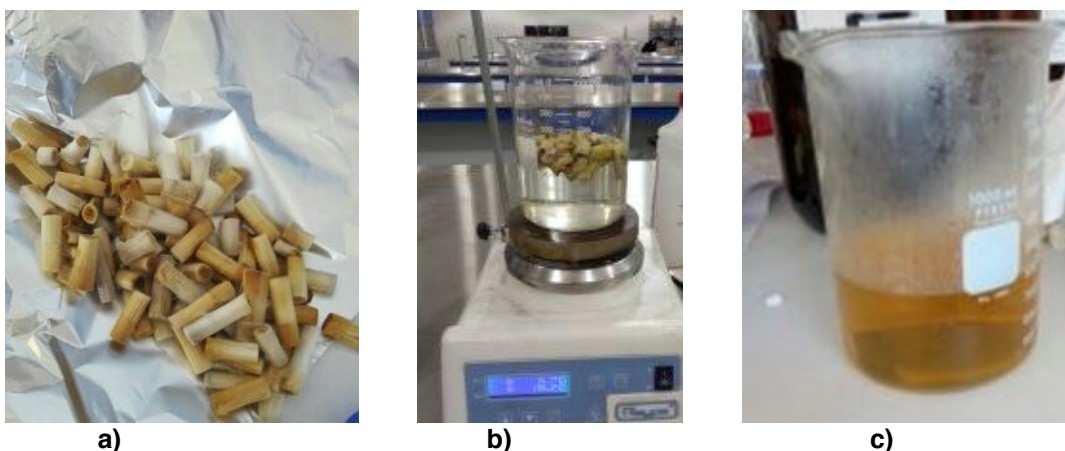


Figura 1. a) Limpieza de colillas, b) extracción de nicotina, c) Producto recuperado de la extracción

También se desarrolló otra metodología con la finalidad de comparar los resultados y encontrar la más viable para la extracción de nicotina. Esta metodología se desarrolló mediante una extracción a reflujo, en donde fueron colocadas 20 colillas de cigarro en un matraz balón de 50 mL para llevarse a cabo un reflujo de dos horas. En la figura 2 se muestra el desarrollo de la extracción. En 2-a se muestra el proceso a reflujo y en 2-b el producto obtenido después de realizarse el proceso para la eliminación de la fase acuosa.

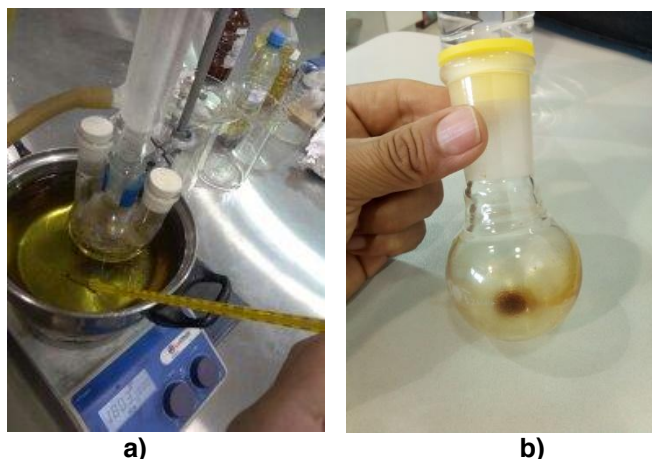


Figura 2. Proceso de extracción a reflujo, a) extracción a reflujo por dos horas, b) Producto obtenido de la extracción.

RESULTADOS

Al término del proceso descrito en la metodología sin reflujo se obtuvieron 400 ml de la muestra, esta fue analizada mediante espectroscopia de infrarrojo, la cual se detalla en la figura 3. En el IR se observa una región de absorbancia en $2900-3600\text{ cm}^{-1}$ que pueden ser las vibraciones de enlaces N-H o O-H debido a la solución acuosa. En la región de $1630 - 1690\text{ cm}^{-1}$ puede ser la vibración del enlace C=O. En este primer espectro no se llega a observar un pico en la región de $3000-3150$ correspondiente a un anillo bencénico, por lo que no queda claro la obtención de la nicotina como compuesto puro.



Figura 3. Espectro de IR obtenido de la extracción en solución acuosa a dos horas.

En la figura 4 se muestra el espectro de IR obtenido de la extracción realizada a reflujo. En este espectro se pueden observar varios picos característicos de los diferentes grupos funcionales de la nicotina. Alrededor de 3500 cm^{-1} se puede ver una banda ancha atribuida a los enlaces N-H derivado de la pirrolidina. El pico entre $2970-2980\text{ cm}^{-1}$ es atribuido a enlaces C-H dentro de la estructura aromática. Una gran banda alrededor de $1677-1691\text{ cm}^{-1}$ corresponden a enlaces en el grupo aromático C=N. Los picos correspondientes alrededor de 717 cm^{-1} y 904 cm^{-1} son atribuidos al enlace C-H de la piridina monosustituida.

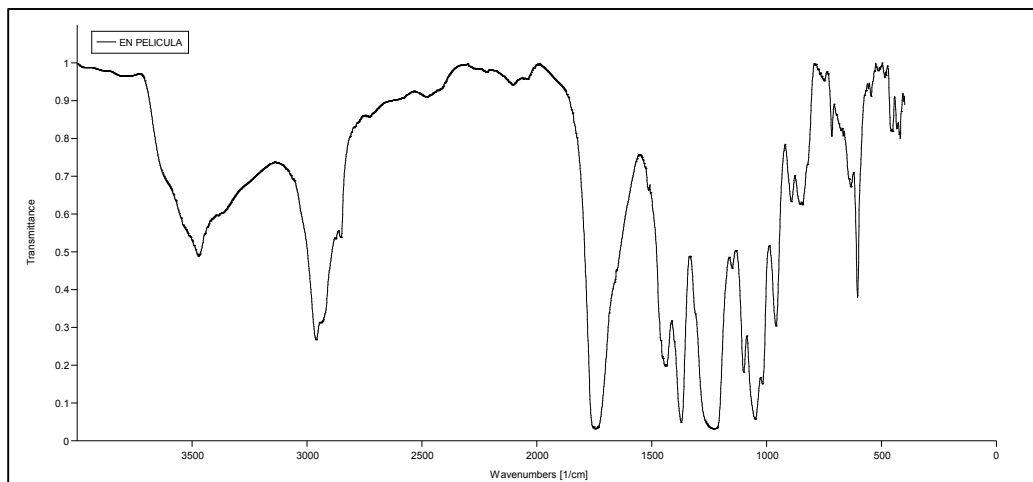


Figura 4. Espectro de IR de la extracción obtenida por reflujo.

También se realizó la caracterización mediante espectroscopia de RMN, tal como se muestra en la figura 5. En donde se puede observar que se obtuvo un compuesto de alta concentración, ya que se observan líneas muy definidas y debido a esto es probable que se encuentre solo con pequeñas trazas de otros compuestos. Sin embargo, es necesario elucidar completamente el espectro, pero con relación al espectro de IR de la figura 4, en donde se observan varios picos correspondientes de la nicotina, se puede decir que se obtuvo el compuesto esperado, con mínimas trazas de otros compuestos.

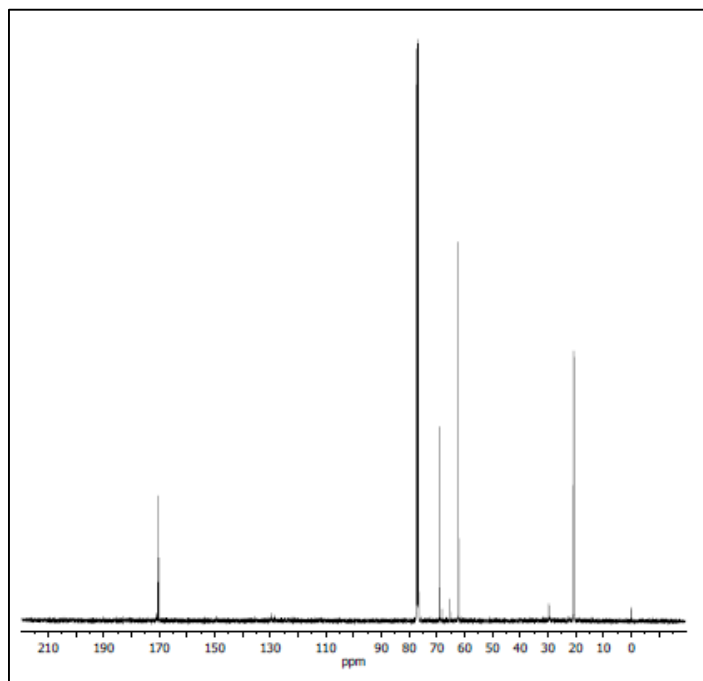


Figura 5. Espectro de RMN del producto obtenido a reflujo.

CONCLUSIONES

De acuerdo a la caracterización realizada mediante FT-IR y RMN, se puede concluir que se logró extraer la nicotina con pequeñas trazas de otros compuestos. Por lo que resulta viable la extracción a partir de desechos urbanos como las colillas de cigarro que de otra forma generan una contaminación medioambiental importante.

Los resultados obtenidos de la extracción de nicotina a partir de colillas de cigarro en medio acuoso resultó ser favorable cuando se somete en condiciones de agitación y temperatura y en tiempos mayores de dos horas. Sin embargo, al ser sometido a reflujo, las condiciones de la extracción mejoran, obteniendo un extracto de mayor pureza.

BIBLIOGRAFÍA

1. Absalón Varona, C. A. (2015). "Propuesta de manejo de residuos de colillas de cigarrillos enfocada en su reciclaje (NICOLECTA)". México, D. F.
2. Barth, A. 2007. Infrared spectroscopy of proteins. *Biochim Biophys Acta*. 1767: 1073-01.
3. Carabias J., Meave J., Valverde T. (2009). *Ecología y medio ambiente en el siglo XXI*. PEARSON EDUCACIÓN, México, 2009.
4. Cheverra, D. (2016). Desarrollan anticorrosivo usando colillas de cigarro. INPRA Latina, 26.
5. Duarte, A. (2010). *Ciencia e ingeniería de los materiales*. Distrito Federal México: Cengage Learning
6. Kaplan T. (2012), City birds use cigarette butts to smoke out parasites. *Nature*, december 05.
7. Novotny T. E., Lum K., Smith E., Wang. V., Barnes R., (2009), Cigarettes Butts and the Case for an Environmental Policy on Hazardous Cigarette Waste., *Int. J. Environ. Res. Public Health.*, 6, 1691-1705.
8. Suárez-Rodríguez M., López-Rull I., and Macías García C., (2013). Incorporation of cigarette butts into nests reduces nest ectoparasite load in urban birds: new ingredients for an old recipe? *Biol Lett*. Feb. 23, 9(1) 1- 3.
9. Tandale, M. R. (2012). *CIGARETTE BUTTS Strategy to Recycle and Management*. Paris.
10. Zhao J., Zhang N., Qu C., Wu X., Zhang J and Zhang X. (2010). Cigarette Butts and Their Application in Corrosion Inhibition for N80 Steel at 90°C in a Hydrochloric Acid Solution. *Ind Eng. Chem. Res.*

SÍNTESIS DE HIDROGELES MICROESTRUCTURADOS CON PARTÍCULAS SINTETIZADAS EN SOLUCIONES ACUOSAS DE ETANOL

Silvia Soledad Rosales Murillo, Jorge Alberto Cortés Ortega, Abraham Gabriel Alvarado Mendoza

Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías

RESUMEN

En el presente trabajo se realizó la síntesis de partículas de Acrilamida, Ácido Crotónico y Ácido Itacónico, en una proporción de etanol/agua 70/30 y 30/70 con y sin tensioactivo determinando la polidispersidad para su posterior uso, con las partículas de mejores propiedades se prepararon hidrogeles de los monómeros correspondientes, el proceso de lavado se realizó en agua destilada y se determinó su capacidad de hinchamiento en agua y diferentes soluciones de pH, obteniéndose materiales que tienen una capacidad de absorción hasta de 490 gramos de agua por gramo de xerogel y el tamaño de partícula de los nanogeles fueron de 877 y 7 nm.

INTRODUCCIÓN

Incrementar la capacidad de absorber agua en los hidrogeles se ha convertido en tema de estudio en los últimos años. Los hidrogeles son redes poliméricas que se hinchan considerablemente en presencia de agua manteniendo su forma hasta alcanzar un equilibrio fisicoquímico [1]. El carácter hidrófilo de estos materiales, se debe a la presencia de grupos compatibles con el agua, tales como -OH, -COOH, -CONH₂, -SO₃H. [2]. Las propiedades de los hidrogeles, permiten su utilización en diferentes campos [3]. Entre los métodos propuestos para lograr incrementar esta propiedad se han realizado reacciones de copolimerización de los monómeros derivados de acrilamida con diferentes monómeros tanto hidrófilos como hidrófobos, con la intención de mantener la proporción entre las propiedades mecánicas y la capacidad de absorber agua, esta copolimerización se ha realizado tanto en la síntesis de copolímeros aleatorios, como en la adición de nanopartículas sintetizadas con estos monómeros, con las cuales se forma una red polimérica microestructurada [4,5], estas partículas se han sintetizado por diferentes medios y formas de polimerización, estos métodos de síntesis abarcan desde la polimerización por precipitación hasta la polimerización en microemulsión inversa, obteniéndose tamaños de partícula desde los nanómetros hasta los micrómetros [6,7] con lo cual se han mantenido la proporción entre las propiedades mecánicas y la capacidad de absorber agua. [8]. El inconveniente de la síntesis de partículas y posterior formación de la matriz polimérica, radica en la utilización de tensoactivos [9] con lo cual los procesos de limpieza del material se vuelven complejos y costosos, a esto se le puede sumar el potencial contaminante de algunos de los tensoactivos utilizados. Por tal motivo, se ha buscado un método de polimerización que produzca partículas poliméricas con propiedades físicas semejantes (forma esférica, tamaño de partícula y polidispersidad), evitando en lo posible el uso de sustancias contaminantes [10], en trabajos previos se ha encontrado que soluciones acuosas al 5% de acrilamida con 1% de agente entrecruzante, 2% de persulfato de potasio (KPS) como iniciador y 2% de N,N,N,N-tetrametilenetilendiamina (TMEDA) como acelerador, se obtenía una matriz polimérica, cuando la concentración de etanol alcanzaba hasta el 15% en peso, estos hidrogeles tiene una mayor capacidad de absorber agua que la capacidad de absorber agua de los hidrogeles preparados en agua pura. En tanto que en este sistema el tamaño de partícula ha sido medido directamente en agua [11].

Por lo que este trabajo se ha enfocado a la utilización de mezclas etanol-agua para la síntesis de nanopartículas de acrilamida, se modificaron las proporciones de etanol-agua en la mezcla inicial de reacción, así como, las relaciones de monómero/solventes, se realizó la caracterización de las partículas obtenidas mediante la determinación de los tamaños y la polidispersidad que presentan.

PARTE EXPERIMENTAL Y MATERIALES

Se utilizó Acrilamida (AM) con una pureza de 99%, grado electroforético, de Aldrich chemical company. Agua bi-destilada, desionizada, de Productos Selectropura, S.A. de C.V. El iniciador empleado fue Peroxisulfato de Potasio (KPS con una pureza de 99%) de Alfa Aesar. Como agente entrecruzante se utilizó N,N-metilenbisacrilamida, (NMBA). El acelerador utilizado fue NNNN-Tetrametil-etilendiamina (TMEDA) ambos de TCI Tokio Kasei. Tensioactivo Dodecibencil sulfato de

sodio (SDBS) TCI America. Ácido crotonico (AC) con una pureza de 98% Sigma Aldrich y Ácido itacónico (AI) al 99% de pureza sigma Aldrich. Alcohol al 96%.

Síntesis de las partículas. Se prepararon soluciones acuosas de etanol al 1% de AM, AM/AC, AM/AI variando la relación etanol/agua 70/30 y 30/70, se adicionó 1 % de agente entrecruzante, 2% de persulfato de potasio (iniciador) y Tetrametilendiamina (acelerador) con respecto del monómero, llevándose a cabo a 30°C, durante 1 día mediante agitación magnética continua. Se repitió el proceso adicionando 0.5% de Tensioactivo (SDBS). Se colocaron a secar en una estufa a 55 °C, cuando el material se secó por completo se dispersa en agua en una proporción de 0.1 gramos de partículas en 9 gramos de agua destilada, esto con el fin de determinar el tamaño de partícula y estandarizar el contenido de polímero en la solución, mediante el dispersor cuasielástico de luz, marca Zetasizer NANO ZS90.

Síntesis de los hidrogeles. Con las partículas de mejores propiedades obtenidas se prepararon hidrogeles microestructurados cuya matriz polimérica será poli(acrilamida con ácido itacónico y ácido crotonico), se agregan las siguientes cantidades:

Tipo de Hidrogel	Partículas	ACRILAMIDA	ÁCIDOS	AGUA	Entrecruzante	Iniciador
AM	0,1 g	0,90 g	-	9 g	0,01	1mL al 2%
AM/AC	0,1 g	0,72 g	0,18 g AC	9 g	0,01	1mL al 2%
AM/AI	0,1 g	0,72 g	0,018 g AI	5 g	0,01	1mL al 2%
BLANCO AM	-	0,90 g	-	9 g	0,01	1mL al 2%
BLANCO AM/AC	-	0,72 g	0,18 g AC	9 g	0,01	1mL al 2%
BLANCO AM/AI	-	0,72 g	0,18 g AI	5 g	0,01	1mL al 2%

Dejándose reaccionar por 1 día a 55°C. La reacción se lleva a cabo en recipientes cilíndricos de vidrio. (todos los % son en masa).

Proceso de limpieza. Transcurrido el tiempo de reacción, se remueven los hidrogeles del recipiente y se colocan en agua destilada a 25°C cambiándola cada 3 horas por 2 días, posteriormente cada día por una semana, al término de este se secan a 55 °C.

Cinética de hinchamiento. Las muestras totalmente secas (xerogeles), se pesan y se colocaron en agua bidestilada y soluciones de pH 13, 9 y 3 a 25°C para determinar su cinética de hinchamiento. Esto se realizó pesando las muestras a diferentes tiempos. De la diferencia entre el peso de la muestra seca y el peso de la muestra hinchada se calcula el hinchamiento con la ecuación 1.

$$H = \frac{\text{peso humedo} - \text{peso seco}}{\text{peso seco}} \quad (1)$$

RESULTADOS

Tamaño de partícula. En la tabla 1 se presentan los tamaños de partículas detectados en el equipo de dispersión cuasielástica de luz. En la mayoría de los casos se obtuvieron distribución de partículas trimodales, se encontró que existe un valor dominante entre los tres tamaños de partícula promedio, a excepción de la composición 0.01% de tensioactivo que solo presenta una distribución bimodal, así mismo es la única muestra que presenta mayor homogeneidad en los tamaños de partícula. En todos los casos se realizaron los experimentos por duplicado y se presentan los promedios obtenidos.

Porcentaje de SDBS	Z-Ave (d.nm)	Pdl
0.005	20	0.148
0.01	934	1
0.015	194	0.563
0.020	123	1
0.025	6343	0.736

Tabla 1. Distribución y tamaño de las partículas

Cinética de hinchamiento. En la imagen 1 se muestra la cinética de hinchamiento de los hidrogeles de Acrilamida en diferentes porcentajes de etanol/agua con y sin tensioactivo, así como el blanco que es el que demuestra un mayor hinchamiento.

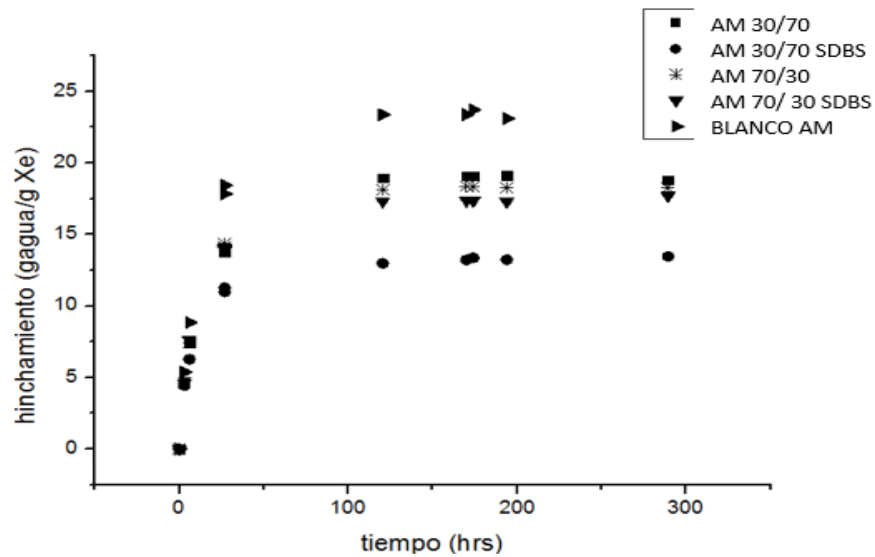


Imagen 1. Hinchamiento de hidrogeles de AM en diferentes porciones de etanol/agua y blanco

En la imagen 2 Y 3 se muestra la cinética de hinchamiento de los hidrogeles de Acrilamida con Ácido Crotonico en diferentes porcentajes de etanol/agua con y sin tensioactivo, así como el blanco que es el que demuestra un mayor hinchamiento

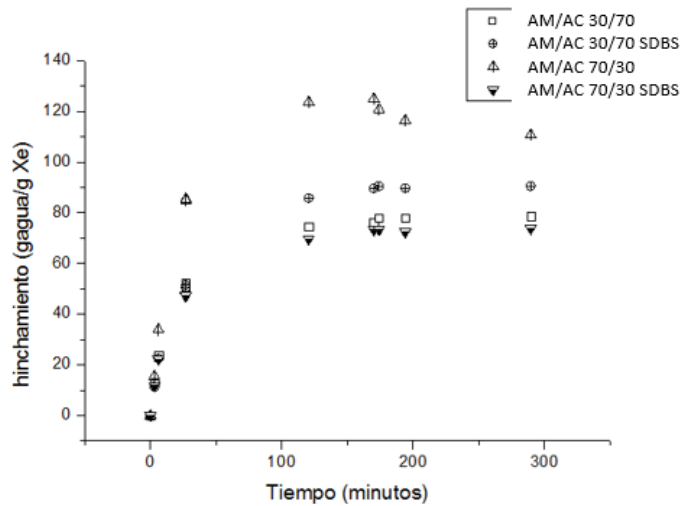


Imagen 2. Hinchamiento de hidrogeles de AM/AC en diferentes porciones de etanol/agua

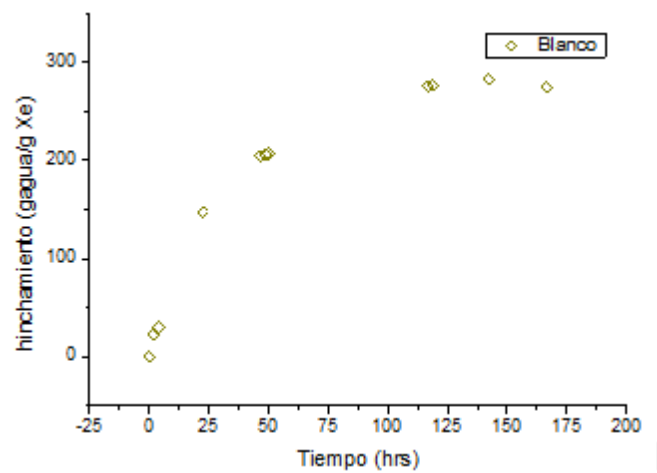


Imagen 3. Hinchamiento del blanco de los hidrogeles de AM/AC

En la imagen 4 se muestra la cinética de hinchamiento de los hidrogeles de Acrilamida con Ácido Itacónico en diferentes porcentajes de etanol/agua con y sin tensioactivo, así como el blanco, donde todas las composiciones muestran mayor hinchamiento que el blanco, siendo la porción de 70/30 etanol/agua con SDBS la que presentó el mayor hinchamiento.

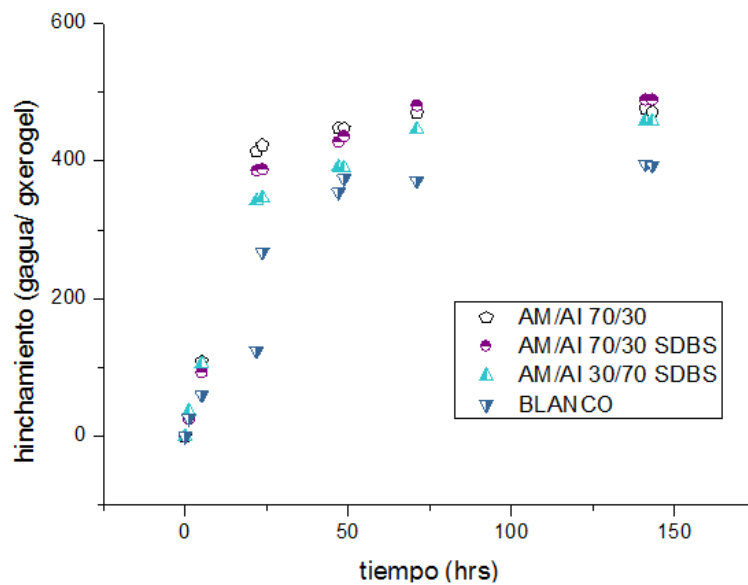


Imagen 4. Hinchamiento de hidrogeles de AM/AI en diferentes porciones de etanol/agua y blanco.

En la imagen 5 se muestra la cinética de hinchamiento de los hidrogeles de Acrilamida con Ácido Crónico en diferentes soluciones de pH siendo las de pH 13 las que presentan mayor hinchamiento.

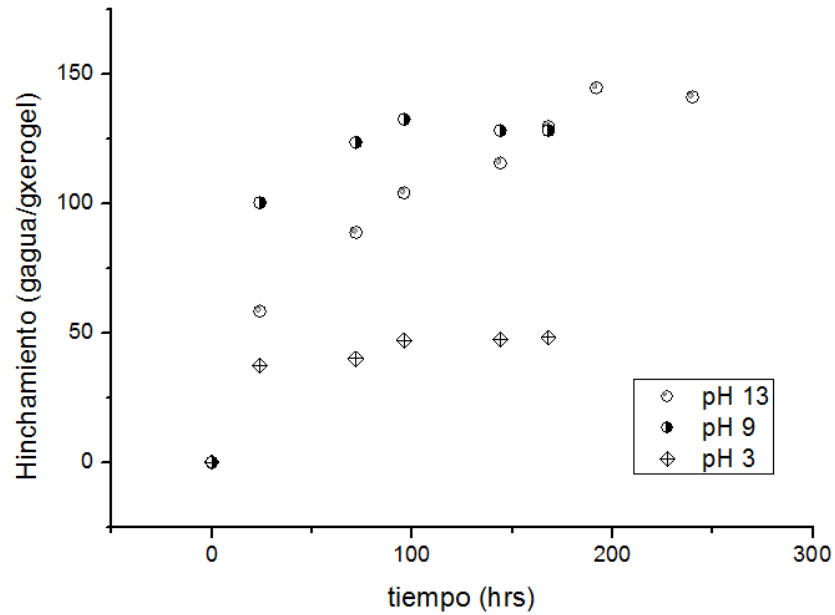


Imagen 5. Hinchamiento de hidrogel de AM/AC 70/30 etanol/agua en soluciones con diferente pH

En la imagen 6 se muestra la cinética de hinchamiento de los hidrogel de Acrilamida con Ácido Itacónico en diferentes soluciones de pH siendo las de pH 9 las que presentan mayor hinchamiento.

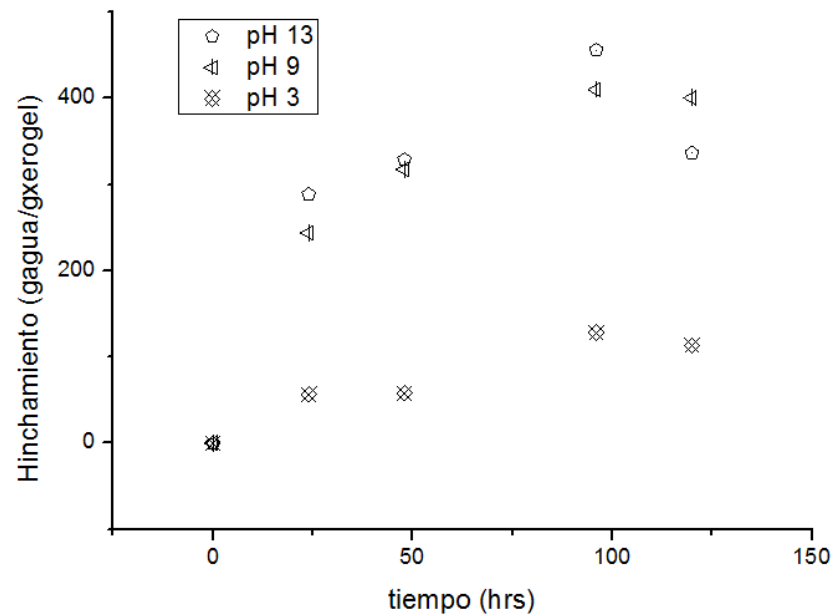


Imagen 6. Hinchamiento de hidrogel de AM/AI 70/30 SDBS etanol/agua en soluciones con diferente pH

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se llevó a cabo la síntesis de nanohidrogel de acrilamida y copolímeros de Ácido Crotonico y Ácido Itacónico en soluciones acuosas de etanol, se encontró que la concentración de etanol influía en el tamaño de partícula de los hidrogel sintetizados, así como en su polidispersidad. Los nanogel modifican su estructura debido a la presencia de etanol en la solución. Así mismo la velocidad de absorber agua se ve incrementada por la presencia de estos

huecos formados en las zonas ricas en etanol que se forman durante el proceso de polimerización, se observa que los nanogeles hinchan más en soluciones básicas esto debido a la presencia de grupos OH⁻ que ionizan los grupos carboxílicos teniendo una mayor capacidad de retención de agua, al tener el Ácido Itáconico dos grupos carboxilos aumenta dicha propiedad, los nanogeles con tensioactivo muestran un hinchamiento levemente mayor a los que no contienen, sin embargo, al utilizar una concentración del 0,01% de tensioactivo, el lavado del nanogel es rápido y barato. Lo que permite un avance en la síntesis de nano materiales sin la necesidad de utilizar altas cantidades de materiales contaminantes.

REFERENCIAS

1. Pedley, D. G.; Skelly, P. J. & Tighe, B. J. - Brit Polym. J., 12, p.99 (1980). <http://dx.doi.org/10.1002/pi.4980120306>.
2. Lee, P. I. - J. Control. Release., 2, p.277 (1985). [http://dx.doi.org/10.1016/01683659\(85\)90051-3](http://dx.doi.org/10.1016/01683659(85)90051-3).
3. Ratner, B. D. & Hoffman, A. S. - "Syntetic hydrogels for biomedical applications", in: Hydrogels for medical and related applications, cap.1, Joseph D.Andrade (ed.), ACS Symposium Series, Washington (1976). <http://dx.doi.org/10.1021/bk1976-0031.ch001>.
4. Tong Yao, Song Guo, Changfeng Zeng, Chongqing Wang, Lixiong Zhang (2015) Investigation on efficient adsorption of cationic dyes on porous magnetic polyacrylamide microspheres. Journal of Hazardous Materials 292, 15:90–97
5. L.J. Puig, J.C. Sánchez-Díaz, M. Villacampa, E. Mendizábal, J.E. Puig, A. Aguiar, I. Katime (2001) Microstructured Polyacrylamide Hydrogels Prepared Via Inverse Microemulsion Polymerization Journal of Colloid and Interface Science 235, 2:278–282
6. Guo, J. S.; El-Aasser, M.; Vanderhoff, J. W. (1989) Microemulsion polymerization of styrene J. Polym. Sci., Polym. Chem. 27:691-710.
7. Antonietti, M.; Bremser, W.; Mûschenborn, D.; Rosenaur, C.; Schupp, B.; Schmidt, M. (1991) Synthesis and size control of polystyrene latices via polymerization in microemulsion *Macromolecules* 24:6636
8. Márcia R. de Moura, Adley F. Rubira, Edvani C. Muniz (2008) Hidrogéis Semi-IPN Baseados em Rede de Alginato-Ca²⁺com PNIPAAm Entrelaçado: Propriedades Hidrofílicas, Morfológicas e Mecânicas Polímeros: Ciência e Tecnologia 18 2:132-137
9. J.A. Cortés, J.E. Puig, J.A. Morales y E. Mendizábal, (2011) Thermosensitive nanostructured hydrogels synthesized by inverse microemulsion polymerization; 10 3:513-520
10. Jorge Alberto Cortés Ortega (2013) Hidrogeles microestructurados de acrilamida y determinación de su capacidad de absorber agua y etanol *Quim. Nova*, 36, 6:757-761
11. Luis Guillermo de Jesús García Sánchez, Jorge Alberto Cortés Ortega (2014) Síntesis de Hidrogeles de Acrilamida en Soluciones Acuosas de Etanol Polímeros, 24, 6:752-756, 2014 <http://dx.doi.org/10.1590/0104-1428.1663>

OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE EXTRACTOS NATURALES Y SU EFECTO MITOGÉNICO SOBRE CÉLULAS MADRE DE LIGAMENTO PERIODONTAL

Luvia Lorena Garza González¹; Casiano del Angel Mosqueda¹, Abelardo Chávez Montes², Uziel Castillo Velázquez³, Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis¹.

Universidad Autónoma de Nuevo León,

¹Facultad de Odontología, ²Facultad de Ciencias Biológicas, ³Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

RESUMEN

En México, la medicina tradicional recurre a la medicina natural como opción de tratamiento para curar enfermedades. La implementación de la terapia basada en células, son una realidad a nivel mundial, sus beneficios para los pacientes y a los sistemas de salud, así como el uso de estas técnicas son de gran impacto en la población que se ve afectada por diversas enfermedades. Las células madre por sus características de autorrenovación, proliferación y diferenciación, han mostrado ser una buena opción para el tratamiento de patologías y alteraciones en los dientes, así mismo como de las estructuras periodontales. El desarrollo dental está regulado por interacciones entre tejidos epiteliales y mesenquimales, por medio de factores de crecimiento y transcripción. OBJETIVO: Obtener y caracterizar extractos acuosos de *Amphipterygium adstringens*, *Ibervillea sonorae*, *Chamaemelum nobile* y *Moringa olifera* para su evaluación mitogénica sobre células madre de ligamento periodontal (PDLSCs). METODOLOGÍA: Se obtuvieron los extractos acuosos naturales con técnica de maceración, se evaluó su efecto mitogénico sobre PDLSCs y se realizó un análisis morfológico por microscopía de campo claro. RESULTADOS: Se presentaron resultados mitogénicos favorables en concentraciones bajas de los extractos acuosos de las plantas *Amphipterygium adstringens*, *Ibervillea sonorae*, *Chamaemelum nobile* y *Moringa olifera*, morfológicamente se observó un cambio favorable sobre el control negativo. Sin embargo en concentraciones elevadas presentaron resultados tóxicos para las células, observando una deficiencia en el número de la morfología celular. CONCLUSIONES: Los extractos acuosos naturales de las plantas estudio, utilizadas en bajas concentraciones funcionaron como factor de crecimiento para las células mesenquimales de ligamento periodontal.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años la investigación científica de las plantas medicinales ha resurgido con inusitado interés, partiendo del hecho que una gran parte de los habitantes de muchos pueblos, especialmente los indígenas, recurren a la medicina natural como la única fuente u opción de tratamiento para curar sus enfermedades.

Después de China, México es el país donde la herbolaria tradicional es el recurso alternativo más utilizado para el tratamiento de padecimientos de distinta naturaleza. Las plantas contienen en alguno de sus órganos (hojas, semillas, flores, raíces, frutos, corteza) principios activos, los cuales si son administrados en dosis suficientes, producen efectos terapéuticos que ejercen una acción farmacológica. Entre éstos destacan los alcaloides, gomas, mucílagos, aceites esenciales, resinas, bálsamos, oleoresinas, taninos y fenoles.

Cada parte de la planta contiene numerosas sustancias a las que se les puede atribuir o no alguna actividad farmacológica. Estas sustancias o metabolitos al ser ingeridos por el hombre como productos medicinales transitan en el organismo por los mismos mecanismos de acción que los fármacos de uso convencional.

Las células madre son células multipotentes que presentan gran potencial clínico como agentes terapéuticos en la medicina regenerativa. Las células madre de la pulpa dental, como células mesenquimales, presentan gran capacidad de diferenciación y multilineaje, por lo que el presente trabajo tiene como finalidad la obtención y caracterización de extractos de las plantas; para evaluar su efecto mitogénico, así como su análisis fitoquímico y cromático.

Los extractos de plantas y aceites esenciales han sido utilizados en la medicina tradicional por muchos años, constituyéndose en una fuente de moléculas potencialmente activas contra parásitos patógenos (Neira et al; 2014).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) y otras organizaciones en función de la salud, fomentan y financian la utilización de plantas medicinales sobre una base científica con relación a la efectividad terapéutica y a la relativa inocuidad de estas, ya que estudios han revelado el potencial de las plantas superiores como fuente de agentes anti-infecciosos, permitiendo de esta manera un avance al uso empírico de las especies vegetales medicinales con una base científica (Piña González et al; 2016).

Amphipterygium adstringens: La corteza del “cuachalalate” ha sido utilizado tradicionalmente para aliviar gastritis, úlceras gástricas, cáncer gastrointestinal, cólicos, fiebre, y también el dolor de dientes. Además, tiene acción anti-inflamatoria, hipocolesterolémico, antifúngicos, y antiprotazoo. Estudios recientes han demostrado que el componente activo responsable de las propiedades de las plantas es el ácido anacárdico, que ejerce antioxidante, antiinflamatorio, antitumoral, antiulcerosa y antimicrobiana actividades (Rodríguez-García et al; 2015).

Chamaemelum Nobile: Es una planta multi-ramificada de hierbas aromáticas. Se propagan rápidamente nativo del norte de Europa y Asia occidental y también es una de las plantas medicinales cultivadas más importantes en el mundo. La manzanilla es de aspecto delicado, pero es sorprendentemente resistente. Las flores son blancas con un centro amarillo (Nasrollahzadeh et al; 2015). Es una hierba perteneciente a la familia Asteraceae. Posee propiedades antibacterianas, antifúngicas, insecticidas, hipotensor, anti-inflamatorias, hipoglucemiante y antioxidante (Esmail and Snafi, 2016).

Ibervillea sonora: es utilizado como un antibiótico tópico, catártico, antirreumático y, recientemente, hipoglucémico (Rivera-Ramírez, 2011). Se se ha utilizado ampliamente para tratar desordenes metabólicos como la diabetes. Algunas investigaciones han demostrado su efecto hipoglucémico en modelos en ratones y ratas, sin embargo, poco se sabe sobre su modo de acción (Rivera-Rosas et al; 2016).

Moringa olifera: Es una planta conocida por sus múltiples usos y beneficios de salud. Contiene gran potencial nutricional, propiedades medicinales y quimiopreventivos ya que tiene la capacidad de inducir apoptosis en células cancerígenas (Karim et al; 2016). Las hojas de moringa se añaden a preparaciones alimenticias como parte de la dieta tradicional. En la medicina estas hojas se utilizan para tratar varios padecimientos entre ellos la malaria, la fiebre tifoidea, enfermedades parasitarias, artritis, inflamación, heridas, enfermedades de la piel, enfermedades genito-urinario, la hipertensión y diabetes. También es usada para inducir la lactancia y estimular el sistema inmunológico, así como estimulantes cardiacos y anticonceptivos (Leone et al; 2015).

Células madre mesenquimales

Las células madre mesenquimales (CMM) se caracterizaron por primera vez en los años 1960 y 1970 por Friedenstein, extraídas de la médula ósea de pacientes sanos. Las CMM, se les conoce también como células estromales de médula o fibroblastos formadoras de colonias. Son células multipotentes que han demostrado potencial clínico como agentes terapéuticos en la medicina regenerativa. Son derivadas de tejidos mesodérmicos (Friedlis and Centeno, 2016).

Células madre de origen dental

En los tejidos dentales, se han encontrado diferentes tipos de células madre, según la región anatómica en la que se encuentran. Estas incluyen las células madre de la pulpa dental, las células de los dientes primarios exfoliadas, las células madre que se derivan de la papila apical, células de la papila dental, folículo dentario células y células del ligamento periodontal (Li et al., 2016).

Células madre de ligamento periodontal (PDLSc)

Las células madre de ligamento periodontal humano, han sido estudiadas con fines de múltiple potencial de diferenciación dentro del que se encuentra el linaje óseo. En la actualidad la regeneración ósea por ingeniería de tejidos ha sido considerada como una alternativa a la técnica de injerto autólogo (Carrillo et al., 2015).

PARTE EXPERIMENTAL

Obtención de extractos; Se trituraron las plantas de *Amphipterygium adstringens*, *Ibervillea sonora*, *Chamaemelum nobile* y *Moringa olifera* Fig 1, mediante un molino para obtener partículas finas. En una temperatura de 500°C se colocó en ebullición 100 mL de agua destilada durante 5 minutos. Se agregó la planta estudio y se dejó en ebullición durante 1 minuto, a una temperatura de 500°C. Se disminuyó la temperatura a 200°C y se mantuvo la planta en ebullición durante 7 minutos. Se centrifugaron y se colocaron en viales para conservar en refrigeración. Posteriormente cada extracto

obtenido fueron de alto rendimiento centrifugados y filtrados para obtener una mejor pureza para las pruebas.



Fig. 1 Plantas Maceradas

Obtención del perfil fitoquímico; Se colocó una muestra del extracto en tubos de ensayo con un mL de etanol, para luego una muestra de cada extracto solubilizado en los tubos de ensayo se colocó en cada pozo de las placas, posteriormente se agregaron los reactivos según la prueba colorimétrica a analizar para determinar la presencia de los compuestos químicos en las muestras de extractos (Fig. 2).

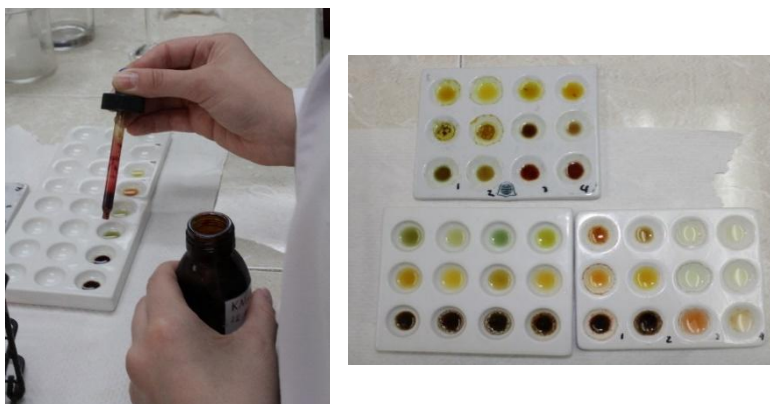


Fig. 2 Reacciones colorimétricas

Evaluación de efecto mitogénico; para este ensayo se centrifugó un criovial de células a 1200 rpm durante 10 minutos. Se cultivaron las células con DMEM-F12, suero fetal bovino al 2% y anti-anti. Se expusieron las células a los cuatro extractos acuosos valorando diversas concentraciones desde 0.1, 0.05, 0.01, 0.005 y 0.001 mg/mL durante 72 horas. Posteriormente al tiempo de incubación, se adicionó el reactivo FDA durante 30 minutos a 37° C y se realizó una lectura de fluorescencia a 495 nm.

Análisis morfológico por microscopía de campo claro; Se colocaron las células del ligamento periodontal, en una placa de 96 pozos, se fijaron con formalina neutra al 10% y se tiñeron con cristal violeta. Se adicionaron las muestras de cada extracto y se dejaron actuar para posteriormente analizar los cambios microscópicos.

RESULTADOS

Pruebas fitoquímicas, Dentro de los resultados obtenidos encontramos que las cumarinas y las sesquiterpenlactonas fueron encontrados en tres de los extractos de las plantas estudio, por lo que podemos sospechar que dichos extractos presentan propiedades similares. En relación al efecto mitogénico, y bajo las condiciones experimentales en este estudio se pudo identificar que las concentraciones de los extractos acuosos de las plantas estudio, sirvieron como factores de crecimiento en las células excepto, el *Amphipterygium adstringens*, (Tabla 1), el cual no produjo ningún tipo de cambio celular, a continuación se muestra una gráfica de los resultados obtenidos en dicho experimento.

Tabla 1. Porcentaje de Proliferación celular

mg/mL	<i>Moringa</i> %	<i>Cuachalalate</i> %	<i>Wereke</i> %	<i>Manzanilla</i> %
0.1	61.6	62.8	15	83
0.05	66.6	70.4	22	94.3
0.01	84.9	83.6	109.4	112.5
0.005	101.8	90.5	108.1	111.9
0.001	101.2	99.3	106.2	99.3
Ctrl -	100	100	100	100
Ctrl +	123.3	123.3	123.3	123.3

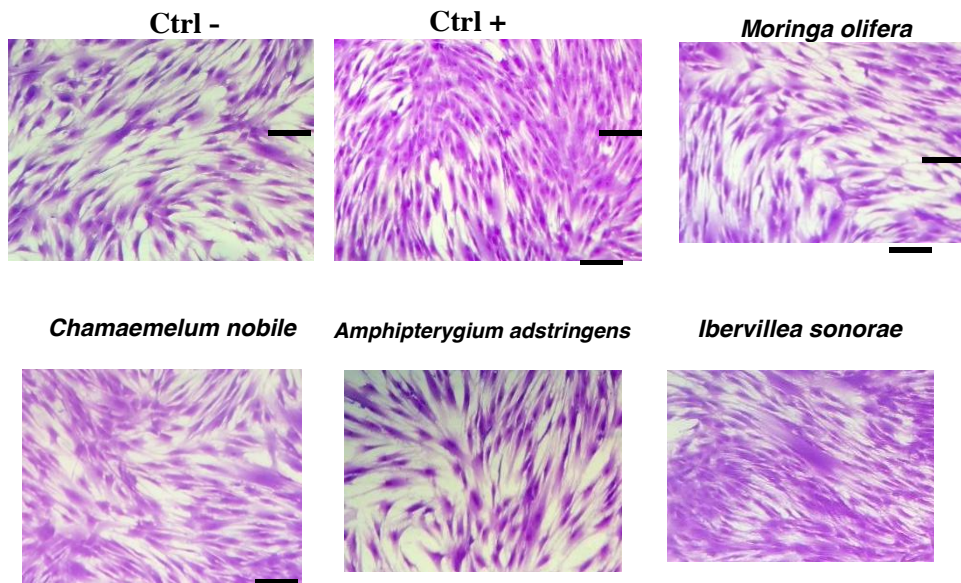
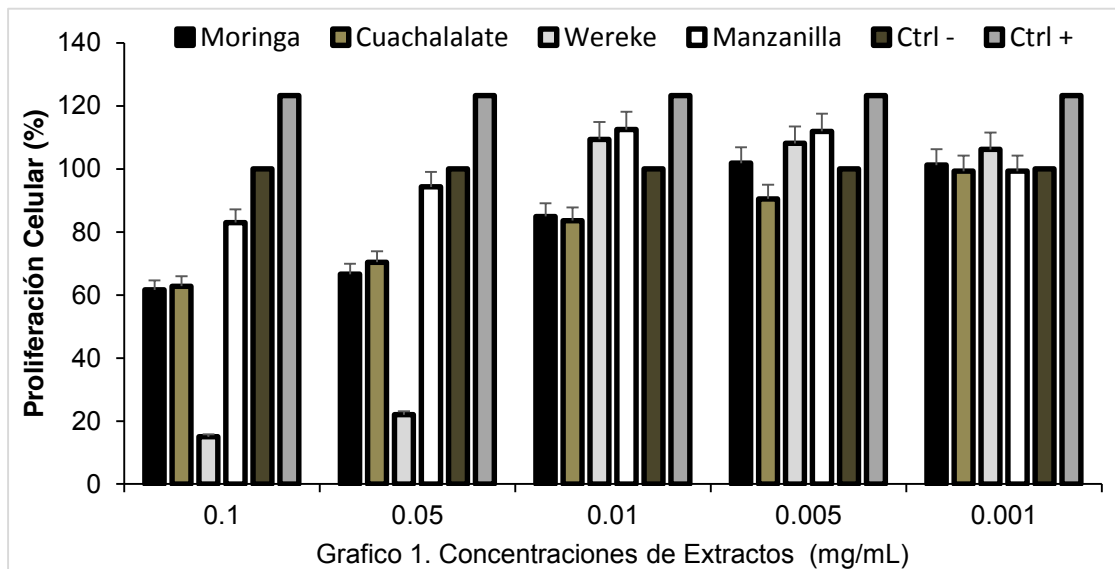


Grafico 1. Cambios Morfológicos celulares (0.005 mg/mL) 72 H.



Los compuestos cumarinas y sesquiterpenlactonas están relacionados con la actividad proliferativa de las PDLSCs. Una baja concentración (.01, .005 y .001 mg/mL) de los extractos de *Chamamealum nobile*, *Ibervillea sonorae* y *Moringa olifera* inducen un efecto mitogénico sobre PDLSCs.

DISCUSIÓN

Los extractos de plantas y aceites esenciales han sido utilizados en la medicina tradicional por muchos años, constituyéndose en una fuente de moléculas potencialmente activas contra parásitos patógenos (Neira et al; 2014).

En la medicina regenerativa, las células madre por sus características de autorrenovación, proliferación y diferenciación, han mostrado ser una buena opción para el tratamiento de patologías y alteraciones en los dientes, así mismo como de las estructuras periodontales (Munévar-Niño et al., 2008).

En nuestro estudio se encontró que los extractos de las plantas *Chamamealum nobile*, *Ibervillea sonorae* y *Moringa olifera* incrementan la tasa de proliferación del 10% respecto al control negativo, presentando gran potencial para la regeneración ósea en pacientes con alteraciones en el metabolismo óseo.

En los extractos utilizados en este estudio, en concentraciones de .1 y .05 presentan resultados de citotoxicidad, la cual supone existe una dosis dependiente de los extractos por lo que van encaminados sobre diferentes propiedades de los ingredientes activos.

Por dicha razón diversos extractos de plantas que se emplean en la medicina natural han sido utilizados para el tratamiento contra del cáncer, mostraron citotoxicidad sobre células tumorales (Díaz-García et al., 2011).

CONCLUSIONES

Los extractos de plantas empleados en altas concentraciones inducen cambios morfológicos y muerte celular. Los extractos de las plantas *Chamamealum nobile*, *Ibervillea sonorae* y *Moringa olifera* en bajas concentraciones son un coadyuvante potencial para su estudio en la regeneración ósea y que permita su posible aplicación en pacientes con alteraciones en el metabolismo óseo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alkharobi H, Alhodhodi A, Hawsawi Y, Alkafaji H, Devine D, El-Gendy R, Beattie J. 2016 vol. 3 pp.517-522 IGFBP-2 and -3 co-ordinately regulate IGF1 induced matrix mineralisation of differentiating human dentalpulp cells. Stem Cell Res.
2. Agis H, Stampfl B, Watzek G, Gruber R. 2013; vol.9-10 pp.1047-55. Activated platelets increase proliferation and protein synthesis of human dental pulp-derived cells. Tissue Eng Part A.
3. Carvajal Rojas L, Hata Uribe Y, Sierra Martínez N, Rueda Niño D. 2009 Vol. 12 pp. 161-170 ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR DE HOJAS, TALLOS Y SEMILLAS DE CUPATÁ (STRYCHNOS SCHULTESIANA KRUKOFF) Revista Colombia Forestal.
4. Cells. Li J, Tian W, Song J J Cell Physiol. 2016 vol.72 pp.116-123. Proteomics Applications in Dental Derived Stem Cells. Li J, Tian W, Song J Arch Oral Biol.
5. Chaudhary LR, Hofmeister AM, Hruska KA. 2004, vol 3, pp. 402-11 Differential growth factor control of bone formation through osteoprogenitor differentiation. Bone.
6. Egamberdieva D, Wirth S, Li L, Abd-Allah EF, Lindström K. Bioengineered. 2016 Oct 26:0 Microbial cooperation in the rhizosphere Esmail A, Snafi A. MEDICAL IMPORTANCE OF ANTHEMIS NOBILIS (CHAMAEMELUM NOBILE) - A REVIEW Asian Journal of Pharmaceutical Science & Technology
7. Emami SA, Sahebkar A, Javadi B 2015; vol.6 pp.12791-835. Paresthesia: A Review of Its Definition, Etiology and Treatments in View of the Traditional Medicine. Int J Mol Sci.
8. Espinoza F, Aliaga F, Crawford P. Escenario actual y perspectivas de la terapia con células madre mesenquimales en medicina intensiva Rev. méd. Chile, 2016 vol.2 pp. 144
9. Evaluation of the bioactivity of recombinant human lactoferrins toward murine osteoblast-like cells for bone tissue engineering. 2009; vol.3 pp. 382-8. Amini AA, Nair LS J Endod.

10. Friedlis MF, Centeno CJ. 2016 vol. 4 pp.919-939 Performing Better Bone Marrow Aspiration Phys Med Rehabil Clin N Am.
11. García-Rocha R, Moreno-Lafont M, Mora-García ML, Weiss-Steider B, Montesinos JJ, Piña-Sánchez P, Monroy-García A. 2015, vol. 4, pp. 42-52 Mesenchymal stromal cells derived from cervical cancer tumors induce TGF- β 1 expression and IL-10 expression and secretion in the cervical cancer cells, resulting in protection from cytotoxic T cell activity. Cytokine. Benítez-Arvizu G, Palma-Lara Í, Vazquez-Campos R, Sesma-Villalpando RA, Parra-Barrera A, Gutiérrez-Iglesias G. Autologous mesenchymal stem cells and cutaneous autograft as a treatment for chronic ulcer secondary to diabetes mellitus 2] Cir Cir. Vol 6 pp. 532-6.
12. Gnanaprakasam, Estrada-Muñiz E, Vega L. Department of Toxicology, Centre for Research and Advanced Studies of the National Polytechnic Institute, Av. IPN, 2508, San Pedro Zacatenco, Mexico City 07360, Mexico
13. Guzmán-Pozos A, Cruz-Cruz E. 2014 vol.37 no.3 Características físicas de frutos de cuachalalate (*Amphipterygium adstringens* (Schltdl.) Standl) de tres procedencias Revista fitotecnia mexicana versión impresa
14. Hernández-Galicia E, Calzada F, Roman-Ramos R, Alarcón-Aguilar FJ. 2007 vol 3 pp.236-40. Monoglycerides and fatty acids from Ibervillea sonoreae root: isolation and hypoglycemic activity. Planta Med.
15. Karim NA, Ibrahim MD, Kntayya SB, Rukayadi Y, Hamid HA, Razis AF. Moringa oleifera Lam: Targeting Chemoprevention. Curr Pharm Des. 2016; vol.3 pp. 321-7.
16. Leone A, Spada A, Battezzati A, Schiraldi A, Aristil J, Bertoli S 2015; vol.6 pp.796-804. Cultivation, Genetic, Ethnopharmacology, Phytochemistry and Pharmacology of Moringa oleifera Leaves: An Overview. Phytother Res.
17. Locatelli M, Zengin G, Uysal A, Carradori S, De Luca E, Bellagamba G Multicomponent pattern and biological activities of seven Asphodeline taxa: potential sources of natural-functional ingredients for bioactive formulations , 2016 Oct 24:1-8 JOURNAL OF ENZYME INHIBITION AND MEDICINAL CHEMISTRY
18. Lopez Jornet1,* C. Aznar-Cayuela2 Efficacy of topical chamomile management vs. placebo in patients with oral lichen planus: a randomized double-blind study Department of Oral Medicine, Faculty of Medicine and Dentistry, University of Murcia, Murcia, Spain Colaborate Department of Oral Medicine, Faculty of Medicine and Dentistry, University of Murcia, Murcia, Spain
19. Munévar Niño JC, Becerra Calixto A, Bermúdez Olaya C. 2008, Aspectos celulares y moleculares de las células madres involucrados en la regeneración de tejidos con aplicaciones en la práctica clínica odontológica. Acta Odontológica Venezolana Acta odontol. venez.
20. Mochida K, Sakurai T, Seki H, Yoshida T, Takahagi K, Sawai S, Uchiyama H, Muranaka T, Saito K 2016; vol. 8 pp.3675-86. Draft genome assembly and annotation of Glycyrrhiza uralensis, a medicinal legume. Asian Pac J Cancer Prev.
21. Nasrollahzadeh M, Sajadi SM, Rostami-Vartooni A. 2015 Green synthesis of CuO nanoparticles by aqueous extract of Anthemis nobilis flowers and their catalytic activity for the A coupling reaction. J Colloid Interface Sci.
22. Rathinam E, Rajasekharan S, Chitturi RT, Martens L, De Coster P. 2015 vol.11, pp.1805-17. Gene Expression Profiling and Molecular Signaling of Dental Pulp Cells in Response to Tricalcium Silicate Cements: A Systematic Review. J Endod. Rodríguez-García A, Peixoto I, Verde-Star M, De la Torre-Zavala S, Aviles-Arnaut H, In Vitro Antimicrobial and Antiproliferative Activity of *Amphipterygium adstringens*
23. Rivera-Ramírez F, Escalona-Cardoso G, Garduño-Siciliano L, Galaviz-Hernández C, Paniagua-Castro N. Antiobesity and Hypoglycaemic Effects of Aqueous Extract of Ibervillea sonoreae in Mice Fed a High-Fat Diet with Fructose Hindawi Publishing Corporation Journal of Biomedicine and Biotechnology vol. 2011, pp.
24. Rivera-Rosas, Santes V, Texale-Castro I, De Vizcaya-Ruiz A, Uribe-Ramírez M, Del Razo LM, Arreola-Mendoza L 2016. Ibervillea sonoreae root extract modifies glucose uptake and GLUT4 plasma membrane translocation in L6-GLUT4myc muscle cells.

25. Rodríguez N, Pérez, J, Iglesias J, Gallego R, Veiga B, Coteló N 2015, vol. 4, pp. 42-52 Actualidad de las plantas medicinales en terapéutica Currency of Ledicinal plants in therapy Acta Farmacéutica Portuguesa
26. Sánchez-Berná I, Santiago-Díaz C, Jiménez-Alonso J. 2015 vol 2 pp. 88-91 [Immunomodulatory properties of stem mesenchymal cells in autoimmune diseases]. Med Clin (Barc).
27. Salimeh Ebrahimnezhada, Zahra Amirghofranb, and Mohammad Hossein Karimia 2016, vol. 45, no.3, pp.191–204. Decline in Immunological Responses Mediated by Dendritic Cells in Mice Treated with 18 α -Glycyrrhetic Acid IMMUNOLOGICAL INVESTIGATIONS.
28. Improves liquorice growth under salt stress Plant J.
29. Stohs SJ, Hartman MJ. 2016 Review of the Safety and Efficacy of Moringa
30. oleifera. J Oral Maxillofac Res.
31. Tabatabaei FS, Torshabi M Int Endod J. 2010; vol.2 pp.115-24. Effects of Non-Collagenous Proteins, TGF- β 1, and PDGF-BB on Viability and Proliferation of Dental Pulp Stem Cells. Theocharidou A, Bakopoulou A, Kontonasaki E, Papachristou E, Hadjichristou C, Bousnaki M, Theodorou G, Papadopoulou L, Kantiranis N, Paraskevopoulos K, Koidis P. 2016 Odontogenic differentiation and biomineralization potential of dental pulp stem cells inside Mg-based bioceramic scaffolds under low-level laser treatment. Lasers Med Sci.
32. Taohonga L, Yongzhenga W , Chaoa M, Genxiac L, Mingb Y, Xiangqina X, Huayina W, Jinyina D, Jinhua Y, Professor D, Directorb C, Jinquan M, Lecturera D Insulin-like growth factor 1 promotes the proliferation and committed differentiation of human dentalpulp stem cells through MAPK pathways.
33. Piña González R, Laurel Carbonell L, Ortíz Sánchez Y, Marcel Llovet A, Hernández Ginarte M. 2016; pp. 20-2 Caracterización Fitoquímica de extractos obtenidos a partir de hojas y corteza de Spondias mombin (jobo), su relación con las propiedades medicinales de esta especie Multimed. Revista Médica
34. Wang Y, Yan M, Wang Z, Wu J, Wang Z, Zheng Y, Yu J. 2013, vol. 1 pp.1709-17. Dental pulp stem cells from traumatically exposed pulps exhibited an enhanced osteogenic potential and weakened odontogenic capacity Arch Oral Biol.
35. Zhao J, Khan SI, Wang M, Vasquez Y, Yang MH, Avula B, Wang YH, Avonto C, Smillie TJ, Khan IA 2014 vol.3 pp.509-15 Octulosonic acid derivatives from Roman chamomile (*Chamaemelum nobile*) with activities against inflammation and metabolic disorder. J Nat Prod.
36. Isolation and osteodifferentiation capacity of dental pulp and periodontal ligament stem cells Natalia Carrillo-Mendigaño 1 , Dabeiba Adriana García-Robayo 2 , Liliana Margarita Otero-Mendoza Revista CES Odontología ISSN 0120-971X Volumen 28 No. 2 Segundo Semestre de 2015

EVALUACIÓN IN VITRO DE ANDAMIOS COMPUESTOS DE PLA/nMg/nHA

Héctor Saucedo Martínez, Marco Aurelio Pardo Galván, Ana Edith Higareda Mendoza

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

RESUMEN

La fabricación de andamios de diversos biomateriales es una alternativa para terapias donde son necesarios los injertos de hueso, ya que además de ser un remplazo del hueso, buscan la regeneración ósea guiada. Para cumplir con lo anterior es necesario que el biomaterial empleado, además de ser un sustituto temporal del hueso, sea un compuesto capaz de reabsorberse y ser sustituido gradualmente con tejido óseo nuevo. El objetivo del trabajo fue el de evaluar la biodegradabilidad, biocompatibilidad, osteoinductividad y osteoconductividad *in vitro* de biomateriales de PLA/nMg/nHA diseñados como andamios de regeneración ósea. Se observó tamaño de poro por Microscopia Electrónica de Barrido. Se evaluó la degradabilidad en agua y se evaluó la formación de HA en solución de Kokubo. Utilizando azul de alamar se observó la adhesión, viabilidad y citotoxicidad de células de la línea MC3T3-E1 expuestas a los andamios, así como la formación de colágeno por una tinción de picosirius y la mineralización con una tinción de rojo de alizarina. Los resultados mostraron interconectividad en los poros con tamaños de 45-393 μm y una porosidad estimada de 58.42 %. Se observaron partículas de HA neoformada en solución Kokubo. El andamio sumergido en agua mantuvo un pH entre 7 y 7.4, que es el similar al fisiológico. Los productos de degradación no fueron citotóxicos, ya que la viabilidad fue superior al 80 %. La adhesión celular sobre el andamio fue de 22.76 % tras 4 horas; se duplicó el cultivo tras 3 días y se mantuvo después de 5 días. Para el colágeno y para la mineralización de la matriz extracelular, el andamio mostró una secuencia similar a la descrita en controles inducidos a diferenciación. El andamio propuesto presentó la capacidad de ser biodegradable, biocompatible, osteoinductor y osteoconductor *in vitro*, cuatro de las características esenciales para andamios utilizados en la regeneración ósea.

INTRODUCCIÓN

La bioingeniería de tejidos tiene como uno de sus principales campos de acción el desarrollo de materiales sintéticos bioactivos que permitan lograr con éxito la regeneración ósea. En la actualidad existen varios biomateriales propuestos para su utilización como andamios, entre ellos el ácido poliláctico y sus derivados, pero estos últimos al degradarse producen productos ácidos que pueden llegar a ser citotóxicos. Para evitar el daño por el cambio de pH, una de las propuestas es la incorporación de metales, en forma de nanopartículas, a estos polímeros para regular la acidez. En su forma de nanopartículas, con estos metales se intenta mejorar su incorporación al polímero, buscando mejorar otras propiedades, como la osteoinductividad.

TEORÍA

El hueso es un tejido dinámico en constante formación y reabsorción. Este fenómeno equilibrado, denominado proceso de remodelado, permite la renovación de un 5-15 % del hueso total al año en condiciones normales. A partir de los 50 años de edad, existe un predominio de la reabsorción y la masa ósea empieza a disminuir.¹ La osteoporosis y la osteopenia son enfermedades sistémicas, metabólicas y multifactoriales, caracterizadas por masa ósea baja y deterioro microarquitectónico del hueso, con un consecuente aumento de la fragilidad ósea y susceptibilidad a las fracturas. Las terapias actuales de tratamiento de las fracturas consisten en el uso de prótesis y en la aplicación de injertos.²

La fabricación de andamios de diversos biomateriales es un área de la ingeniería de tejidos que se presenta como una alternativa viable para la terapia de sustitución de hueso en padecimientos como la osteoporosis y la osteopenia, así como para otro tipo de terapias donde sea necesario el injerto de hueso. Estos andamios, además de ser un remplazo del hueso, favorecen la regeneración ósea guiada. Para cumplir con lo anterior, es necesario que el biomaterial sea un sustituto temporal del hueso, es decir, de un compuesto capaz de reabsorberse y ser sustituido gradualmente con tejido óseo nuevo.³

En la actualidad existen varios biomateriales propuestos para su utilización como andamios, todos ellos con la finalidad de obtener materiales con morfologías diferentes, con macro y nano estructuras, buscando optimizar sus propiedades.⁴ Entre los materiales utilizados en la actualidad se encuentran la hidroxiapatita, el ácido poliláctico y sus derivados, pero estos últimos al degradarse producen productos ácidos que pueden llegar a ser citotóxicos. Para evitar el daño por el cambio de pH, se ha propuesto la utilización de magnesio en forma de nanopartículas de hidróxido de magnesio para regular la acidez; además, la incorporación de estas nanopartículas en algunos materiales ha demostrado mejorar las propiedades mecánicas y de osteoinducción.⁵

PARTE EXPERIMENTAL

Los andamios se prepararon mediante la técnica de disolución y colada, con sal fusionada como agente porógeno. Se fabricaron andamios de ácido poliláctico (PLA), nanopartículas de hidróxido de magnesio (nMg) y nanopartículas de hidroxiapatita (nHA) en una composición de 85, 15 y 5% en peso, respectivamente.

La interconexión, tamaño y distribución de los poros se determinó por microscopia electrónica de barrido (MEB). Los andamios fueron preparados para su análisis por MEB metalizando la superficie de éstos con cobre y el análisis se realizó en un equipo de microscopia JEOL® modelo JSM-6400.

La degradación por hidrólisis y su efecto sobre el pH se determinó sumergiendo cada andamio en PBS durante 3 semanas y en agua tridestilada por 4 semanas, de los cuales se monitorio el pH cada 7 días. Se tomó muestra del agua con los productos de degradación tras las 4 semanas y se filtraron, para posteriormente realizar una prueba de citotoxicidad en cultivo.

Para valorar la bioactividad de los andamios se sumergieron en 30 mL de solución Kokubo, de la cual se tomó una muestra los días 1, 7, 14 y 21 para evaluar en las superficies de las muestras la formación de HA por MEB acoplado a EDS.

Se realizaron pruebas celulares para medir biocompatibilidad, citotoxicidad, osteoconducción y osteoinducción utilizando la línea celular MC3T3- E1 subclona 4 (ATCC® CRL-2593™).

El ensayo de Azul de Alamar fue la técnica utilizada para evaluar la viabilidad celular en la cual se mide la actividad metabólica celular a través de la conversión de la resazurina. Se realizó añadiendo 10 % de azul de alamar del volumen final de una suspensión de células; se incubó 3 h (2 h en el caso de la citotoxicidad) a 37 °C y en una atmósfera con 6 % de CO₂ para posteriormente medir la absorbancia (Abs) a 570 y 600 nm.

Para evaluar biocompatibilidad se midió adhesión celular, así como la proliferación celular sobre el material. La adhesión celular se evaluó colocando cada andamio en una suspensión de 500,000 células/mL y se incubó durante 4 h para permitir la adhesión celular (día 0). Pasadas las 4 h se cambió el andamio a un pozo nuevo y se realizó el ensayo de azul de alamar. Para evaluar la proliferación de las células que se adhirieron al estar en contacto con los distintos andamios, se agregó nuevo medio de cultivo (MEM-alfa) a las células usadas en el ensayo de adhesión al andamio y se determinó espectrofotométricamente la reducción de azul de alamar los días 1, 3 y 5.

La evaluación de citotoxicidad de los productos de degradación del biomaterial, se realizó colocando una suspensión de 250,000 células/mL en un plato para cultivo, se agregó MEM-alfa y los productos de degradación previamente obtenidos por filtración de las pruebas de degradación por hidrólisis (10% del volumen final); se incubó durante 24 h y se realizó un cambio de medio, agregando 2 mL de MEM-alfa; finalmente, se determinó la viabilidad de las células midiendo la reducción de azul de alamar.

Se determinó la formación de colágeno y el grado de mineralización como marcadores de diferenciación. La diferenciación de las células en el material es la prueba de su osteoconducción; se evaluó cada uno de los marcadores colocando el andamio en una suspensión de 500,000 células/mL (día 0) en MEM-alfa.

El grado de mineralización se realizó con una tinción *in situ* del andamio con rojo de alizarina S, que permite contabilizar los depósitos de calcio y cuantificar el grado de mineralización por espectrofotometría, lo cual se realizó los días 7, 14, 21 y 28.

La formación de colágeno en el andamio se midió con una tinción ácida de Rojo Sirius (picrosirius) y, al igual que en las determinaciones anteriores, se montaron los andamios con una suspensión de células de concentración conocida, de los cuales se tomaron muestras los días 10, 14, 21 y 28.

RESULTADOS

En la MEB se observaron tamaños de poro que van de los 45 a los 393 μm , se determinó la porosidad estimada, siendo esta de 58.42 %. La literatura nos dice que el tamaño de los poros necesarios para la infiltración de células y su proliferación debe ser entre 100 y 400 μm , rango donde se encuentran nuestros poros.

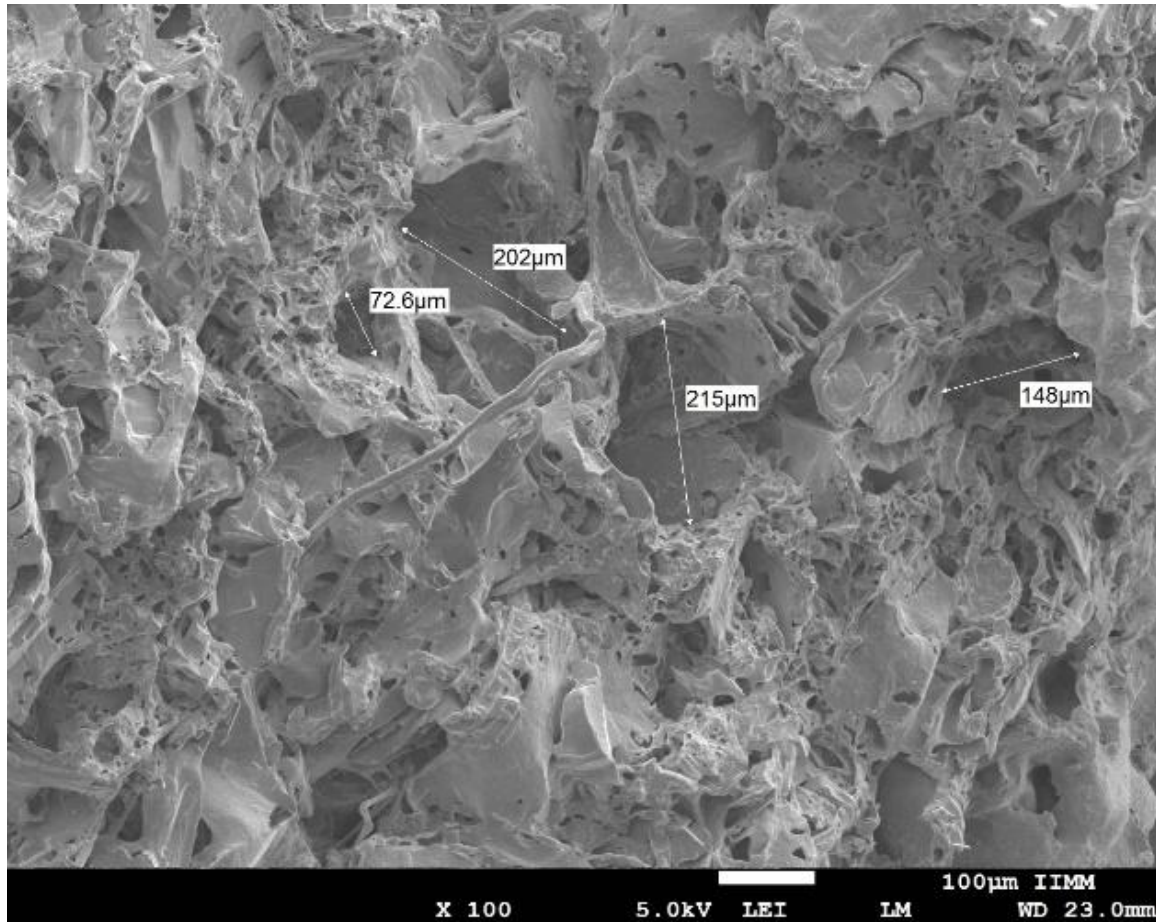


Figura 1. Estructura de los poros del andamio PLA/nMg/nHA. MEB donde se puede observar la distribución y tamaño de los poros que integran el andamio PLA/nMg/nHA.

Al sumergir nuestros andamios en solución de Kokubo y posteriormente observarlos por MEB, se observó formación de hidroxiapatita neoformada a partir del día 14 de sumergido y la estructura de éstas creció hacia el día 21. Esto es un indicador acelular de la biocompatibilidad y buena bioactividad del material en fluido corporal simulado (Solución Kokubo).

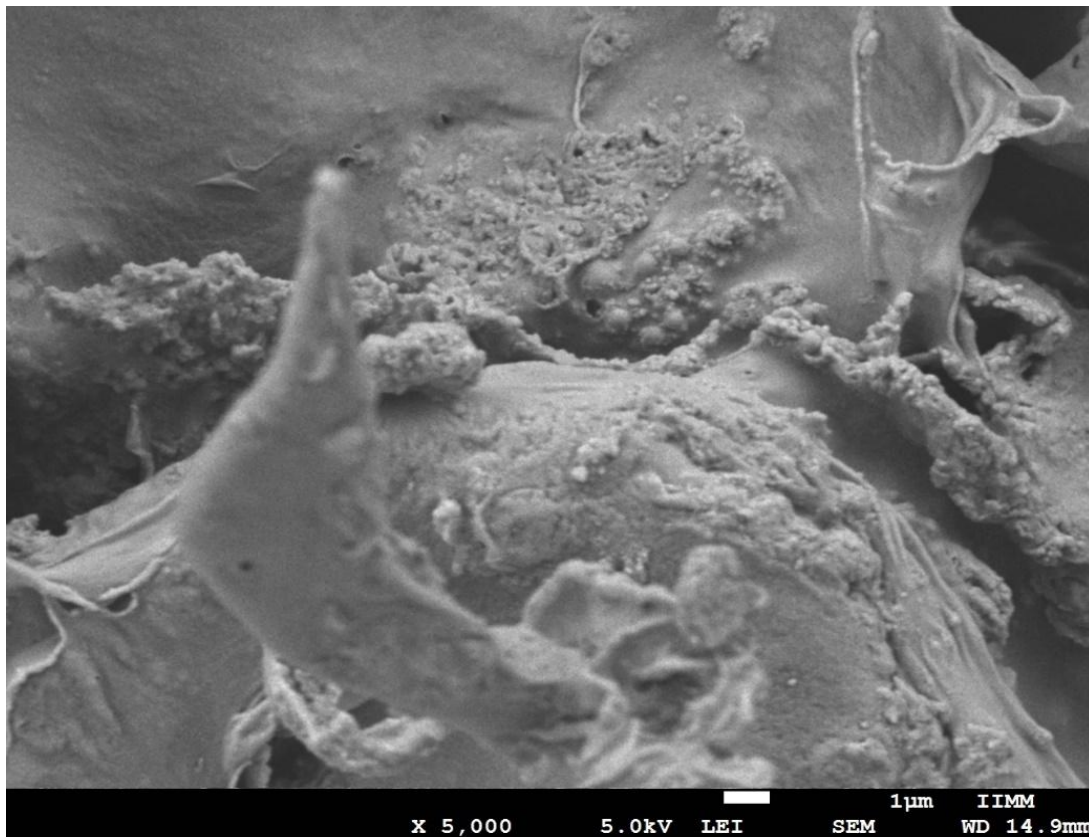


Figura 2. Bioactividad del andamio PLA/nMg/nHA. Formación de hidroxiapatita tras estar sumergidos 14 días en solución de Kokubo.

La degradación del andamio en agua hacia los 14 días llegó a un pH de 7.4 y hacia los 21 disminuyó a 7.0; el pH fue fácilmente controlado en un rango fisiológico (7.35-7.45) al usar un tampón, lo cual es ideal para un andamio biodegradable.

La adhesión celular sobre el andamio fue de 22.76 % tras 4 h de incubación con un cultivo de 500,000 células. El cultivo proliferó y se duplicó tras 3 días y se mantuvo después de 5 días, la proliferación celular en el andamio nos permite observar su excelente osteoconductividad.

Para el colágeno y para la mineralización de la matriz extracelular, el andamio mostró una secuencia similar a la descrita en controles positivos inducidos a diferenciación con ácido ascórbico. En estos controles se observa para el caso de colágeno un máximo para el día 7 utilizando el medio osteogénico; con el andamio, en condiciones de no inducción, se observa un máximo de expresión de colágeno también para el día 7. Para el caso de la mineralización, lo que se esperaba era una expresión máxima para el día 21 en el control inducido a diferenciación; en el caso de los osteoblastos en contacto con el andamio, la expresión máxima se observó también el día 21 y se mantuvo constante hasta el día 28. La expresión de los marcadores de diferenciación de osteoblastos en las células cultivadas con el andamio, similar a la de un cultivo inducido a diferenciación, nos habla de un andamio con características osteogénicas.

CONCLUSIONES

El andamio propuesto presentó la capacidad de ser biodegradable, biocompatible, osteoinductor y osteoconductor en condiciones *in vitro*, características que son esenciales para potenciales andamios en terapias de regeneración ósea.

BIBLIOGRAFÍA

1. I. Fernandez-Tresguerres, M. A. Alobera, M. Del Canto Pingarrón, L. Blanco, "Bases fisiológicas de la regeneración ósea I. Histología y fisiología del tejido óseo", *Med. oral patol. oral cir.bucal.*, Vol. 11, 1, 2006, pp.47-51.
2. K. Alvarez, H. Nakajima, "Metallic scaffolds for bone regeneration", *Materials (Basel)*., Vol. 2, 3, 2009, pp. 790-832.
3. B. A. Allo, D. O. Costa, S. J. Dixo, K. Mequanint, A. S. Rizkalla, "Bioactive and biodegradable nanocomposites and hybrid biomaterials for bone regeneration", *J. Funct. Biomater.*, Vol. 3, 4, 2012, pp. 432-463.
4. S. C. Cifuentes, R. Gavilán, M. Lieblich, R. Benavente, J. L. González-Carrasco, "In vitro degradation of biodegradable polylactic acid/magnesium composites: Relevance of Mg particle shape", *Acta Biomater.*, Vol. 32, 2016, pp. 348-357.
5. H. W. Lee, S. H. Seo, C. H. Kum, B. J. Park, Y. K. Joung, T. Son, D. Keun, "Fabrication and characteristics of anti-inflammatory magnesium hydroxide incorporated PLGA scaffolds formed with various porogen materials", *Macromol. Res.*, Vol. 22, 2, 2014, pp. 210-218.

REPRESENTACIONES DE LA NUEVA RURALIDAD Y LA EXTINCIÓN BIOLÓGICA, DESDE LA VISIÓN DE NIÑAS DE CONEJOS, ATOTONILCO DE TULA, HIDALGO

Pedro Ángeles Juárez, Minerva Leonor González Ibarra, Aída del Rosario Malpica Sánchez

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco.

RESUMEN

En las últimas cuatro décadas el medio rural como espacio geográfico productivo y como una unidad socioeconómica, ha sufrido grandes transformaciones, viéndose alterado el equilibrio ecológico, la producción de recursos y la provisión de servicios ambientales. La Gran Transformación ocurrida en Atotonilco de Tula, Hidalgo, es debido a la presencia de cementeras y calera, que han convertido los espacios verdes en empresas no agrícolas, que durante sus procesos han afectado la diversidad biológica. Mediante el uso de herramientas metodológicas participativas y testimonios gráficos, se obtuvo la visión actual de la diversidad de especies que tienen las niñas de sexto de primaria de la escuela José María Pino Suárez, en la comunidad campesina de conejos, la cual está caracterizada por la deforestación, la erosión, la pérdida de plantas, animales e insectos, así como de semillas de maíz y frijol. Entre las conclusiones se destaca que la actual extinción de especies es real y puede atribuirse a la pérdida de elementos naturales de los cerros que son dinamitados, y lo importante es genera aprendizaje significativo en el ámbito de la educación básica, a través de la investigación - acción - reflexión - acción

INTRODUCCIÓN

Un problema relevante y vigente, es la extinción de especies que integran la biodiversidad regional, siendo latente el riesgo que algunas no puedan ser ni siquiera identificadas por los científicos y se conozca su valor ecológico. La extinción de especies es un tema al que tal vez sea la primera idea científica a la que se enfrentan los niños de hoy. En sus juegos, los infantes recrean un bosque jurásico o finales del cretácico, allí, las pequeñas figuras de plástico representan animales de gran tamaño, sabiendo de antemano que, ejemplares como los dinosaurios desaparecieron hace muchos años. Actualmente la causa de la extinción no está siendo provocada por el impacto de un asteroide que libere una energía de 100 millones megatoneladas de TNT, sino por actividades antropogénicas que afectan los ecosistemas desapareciendo especies que aun llegaron a conocer nuestros padres y abuelos. Para tratar de explicar el porqué de estas desapariciones de especies, hay que analizar los cambios socio-espaciales del territorio y la transformación del paisaje a nivel de la comunidad, revisando el concepto y modelo de desarrollo de la nueva ruralidad, quien ha generado un impacto en el modo de vida de las economías campesinas. Ante este panorama surgen las siguientes preguntas: ¿existe una nueva ruralidad en el campo mexicano?, ¿Cómo se expresa y que características asume en las localidades? Las respuestas giran en torno a cambios cuantitativos y cualitativos, distinguiendo las características particulares del contexto específico, donde, los viejos problemas asociados al reparto agrario, (tierra para la siembra) el acceso de jóvenes a la vida laboral (trabajo) y al estudio (universidad, escuela técnica) se unen a los provocados por la degradación ecosistémica así como al saqueo de todos los recursos (agua, recursos pétreos) y la destrucción del potencial productivo de sector campesino, lo cual conlleva introducción de nuevos negocios lícitos e ilícitos en la multifuncionalidad rural. Polanyi (1947), señaló - Asistimos pues, a la Gran Transformación que transformó la oruga en mariposa -. La enseñanza de las ciencias debe tomar en cuenta las características del medio local para que los conocimientos adquieran el carácter de significativo, lejos de memorizar palabras, los alumnos deben conceptualizar el significado de los contenidos curriculares. A nivel epistemológico la construcción de significados atraviesa la lectura de la propia realidad donde está inserto el sujeto en educación. Un elemento valioso lo constituye el poder ayudar a generar aprendizajes significativos en el ámbito escolar con niñas y niños de educación básica. La investigación – acción- reflexión-acción es parte del presente estudio, donde el objetivo fue conocer la visión que tienen un grupo de niñas de sexto de primaria, de la diversidad de especies de su comunidad, así como de las acciones antropogénicas.

TEORÍA

El concepto de la nueva ruralidad, surge ante el impacto del viraje de la economía global que a partir de la década de 1980 comenzó a generar nuevos patrones en los modos de vida de sustento en las comunidades campesinas, aunado al desmantelamiento del aparato gubernamental de apoyo al sector rural, provocando cambios socio-espaciales del territorio y la transformación del paisaje a nivel de la comunidad. Este modelo de desarrollo ha generado un impacto en el modo de vida de las economías campesinas caracterizado por los siguientes fenómenos: aumento de la urbanización, proliferación de mercados inmobiliarios del uso de la tierra para la construcción de vivienda-servicios, alta dependencia de los ingresos monetarios. La nueva ruralidad puede entonces analizarse desde la perspectiva de a) la transformación de los sistemas productivos y sus vínculos con los procesos en la toma de decisiones de los agentes rurales; b) la transformación del Estado y su impacto en el espacio local; c) procesos de cambio cultural. (Llambi, 1998, Giarranca, 2003, Long y Roberts, 2005, Carral 2012).

Documentar los cambios sociales y ambientales ha sido una preocupación desde hace ya una veintena de años, constatar por observación directa cambios en el paisaje, así como en la estructura y funcionamiento de los ecosistemas, conllevan a un profundo cambio estructural que afecta la calidad de vida en las poblaciones rurales, ante lo cual surgen las preguntas ¿Cómo son percibidas estas transformaciones por los niños de las comunidades campesinas? La lectura de la desaparición de especies locales es el pre-texto idóneo, para indagar estas transformaciones, los conocimientos que de aquí se desprendan deben incidir en la formación misma y en los contenidos curriculares en materia ambiental y la generación de valores éticos para la reconstrucción del espacio vivido.

La enseñanza de las ciencias debe tomar en cuenta las características del medio local para que los conocimientos adquieran el carácter de significativo, lejos de memorizar palabras, los alumnos deben conceptualizar el significado de los contenidos curriculares. A nivel epistemológico la construcción de significados atraviesa la lectura de la propia realidad donde está inserto el sujeto en educación. Un problema vigente, relevante y pertinente lo constituye la extinción de especies, este tema tal vez sea la primera idea científica a la que se enfrentan los niños en nuestros días. En sus juegos, los infantes recrean un bosque jurásico o finales del cretácico, allí, las pequeñas figuras de plástico representan animales de gran tamaño, de antemano, saben que todos los dinosaurios desaparecieron hace muchos años. La situación actual es alarmante pues plantas vasculares, hongos, bacterias, anfibios, reptiles que integran la biodiversidad regional están en riesgo de desaparecer mucho antes de que puedan ser identificadas por los científicos y conozcamos su valor ecológico. Tanto las instituciones de enseñanza escolar en todos sus niveles deben dar respuestas eficaces a la solución de dicho problema, de este modo, el proceso actual de extinción de especies ocurre, es real y tiene lugar frente a las puertas de la casa, la causa actual de la extinción no está siendo provocada por el impacto de un asteroide que libere una energía de 100 millones megatoneladas de TNT, sino por actividades antropogénicas. La extinción actual se trata de plantas, animales, insectos, reptiles y hongos que todavía llegaron a conocer nuestros padres y abuelos.

El patrón de acumulación utilizado en la región sur del estado de Hidalgo se manifiesta como una profunda crisis energética, ecológica, hídrica, laboral, política y cultural. La región mencionada es de gran dinamismo económico, donde, sin embargo, impera la violencia ambiental entendida en palabras de Narchi “como el cumulo de sucesos que ocurren cuando grupos de poder político generan y mantienen una serie de relaciones asimétricas de poder, con el apoyo económico, estratégico y castrense del Estado. Estas relaciones construyen estructuras e instituciones que permiten planear, desarrollar e implementar un constructo específico de la naturaleza” (Narchi, 2016:265).

Diagnosticar las percepciones, los conocimientos, el saber ambiental local de los pobladores rurales con relación a su realidad social y ambiental, nos permite un acercamiento al aporte de las ciencias sociales y las ciencias ambientales, por ello, se retoma los postulados teóricos que aporta la Ecología Política, representada en autores como Eduardo Gudynas, Enrique Leff, Leonardo Boff y Víctor Manuel Toledo, quienes contribuyen al estudio de los problemas socioambientales mediante la observación sobre la apropiación del ambiente y los bienes de la naturaleza considerando que más allá de la racionalidad económica, prevalecen una serie de valores culturales, identitarios, comunitarios y formas de apropiación ecológica de los actores locales misma que puede ayudar a resolver la actual crisis ecológica. Retomar también los aportes de la Ecología Histórica para el

estudio de los ecosistemas a través del tiempo. Estructuras de pensamiento que permean las instituciones y los códigos culturales sobre la manera de representar, recrear, valorar e idealizar los elementos de la naturaleza y el medio ambiente.

PARTE EXPERIMENTAL

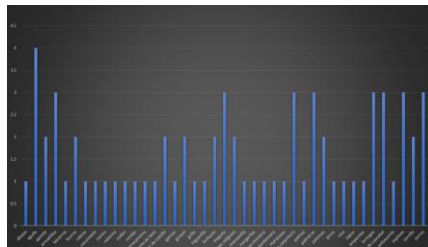
Con base en el uso de metodología de trabajo proactiva (acción – reflexión diagnóstico – acción) mediante la aplicación de un cuestionario, con base en Narchi (2016) de tres preguntas y una representación gráfica, se eligió el tema de desaparición de especies, utilizando aspectos de la ecología como son la distribución y abundancia de individuos (presencia vs no presencia). Se investigó cual es el principal problema socioambiental de la comunidad, para expresarlo de manera gráfica en el entendido que el dibujo, la pintura o el esquema recrea un proceso vivido (asumido e interpretado) en su complejidad donde el alumno coloca ahí su experiencia, su visión del mundo, al tiempo que nos proporciona una parte de sí, de su mundo como él lo siente, lo piensa, lo re-recrea. En hojas blancas cada niña y niño hicieron un listado de las especies que creyeran ya no existen en la comunidad, al reverso un listado de las especies que creyeran que aún es posible encontrarlas, en otra hoja realizaron su dibujo o esquema para estimular su desarrollo creativo. Esta información fue contrastada con tres cuestionarios aplicados a tres mujeres adultas.

RESULTADOS

Conejos es una comunidad de las 14 que integran el municipio de Atotonilco de Tula, se localiza al sur de la cabecera municipal, el nombre se debe que en el cerro había un petrograbado con un conejo. En documentos del siglo XVI se afirma que el lugar era conocido como Tuxtepec, Tochtepeque o cerro de los conejos. Acorde a un censo levantado por la clínica rural IMSS-COPLAMAR, para el año 2000 la población era de 3004 personas, divididas entre 682 familias, actualmente no se han realizado nuevos censos. Producto de la evolución geológica de más de 110 millones de años, la comunidad se asienta en ricos bancos de materiales pétreos: calizas, conglomerados, lutitas bentónicas, yacimientos de arena, tobas, tepetates, puzolana, sílice, pizarra. La altura del municipio es de 2080 m.s.n.m., el relieve topográfico se caracteriza por lomeríos, llanuras, cerros con suave pendiente correspondientes a la provincia de lagos y volcanes de Anáhuac. Acorde a datos meteorológicos en la estación Tula, esta área presenta un clima árido tipo BS1kw (1) gw” perteneciente a climas secos y semisecos de la Sierra Madre Oriental y el Eje Neovolcánico, la precipitación es de 550 mm/anuales, es decir se trata de una región alta, con heladas y vientos fríos en otoño-invierno. La vegetación natural comprende matorral xerofito subinermes caracterizado por la presencia de nopal, cardón, huizache, mezquite, uña de gato, pirúl, las tierras están en proceso de erosión y muy erosionadas. Los suelos son bajos, poco profundos y con deficiente materia orgánica. (Angeles, 2002).

Percepción de las condiciones ambientales: la extinción.

En total se obtuvieron 25 cuestionarios, 22 con alumnos de 6 grado grupo “A” y tres con señoras informantes clave. De los listados se obtuvieron 100 tipos distintos de ejemplares (Ver gráfica 1). Los datos obtenidos fueron depurados eliminando algunos ejemplares que no conforman la biota local.



Grafica no.1. Especies que ya no existen en la comunidad, por el número de frecuencia en las respuestas sobresalen: águila, armadillo, maguay, pájaro carpintero, paloma, tortuga, víbora de cascabel, zopilote, zorrillo y zorro. Elaboración propia de los autores.

Percepción sobre las condiciones del medio silvestre actual.

Si bien algunas especies en peligro de extinción a nivel global como son los elefantes, rinocerontes, cocodrilos, la vaquita marina, guacamaya, avestruz, jirafa, leopardo, ballenas y lobo, especies que resaltan por su majestuosidad corresponden a otro tipo de ecosistema en su mayoría a la sabana africana y al océano, lo cual devela el impacto de la televisión.

Sin embargo, entre las especies que se cree todavía es posible encontrarlas, abundan las especies domesticas como cerdos, vacas, becerros, burros, perros, gatos. Entre los ejemplares silvestres resaltan los reptiles: alicante, hocico de puerco y lagartijas, entre los insectos destaca la araña capulina y los chapulines, por otro lado, el conejo silvestre y los zopilotes obtienen mayor número de frecuencia en las respuestas.

Percepción sobre las condiciones socioambientales.

En general los principales problemas socioambientales de la comunidad del total de entrevistados giran en torno al tema de la contaminación aunada a la corrupción, la violencia, el racismo, la discriminación. Los esquemas giran en torno a la contaminación que generan las fábricas, Resaltan los dibujos trazados por las niñas, llenos de colorido, en su obra gráfica abren el espacio territorial que va más allá del espacio local (ver figura 1). La carretera es un símbolo de modernidad, de incorporación del pequeño espacio rural a la vida económica, hay pocas personas que contribuyen al cuidado del ambiente, pero muchas desperdician el esfuerzo de los demás es una voz crítica que nos tiene que llamar la atención, un semáforo en rojo nos indica hacer un alto en el camino hacia la insustentabilidad.



Figura 1. La autopista México-Tula-Refinería se instaló en 1973, dividió las secciones primera y tercera, el cruce significa un riesgo. Zorrillos, tlacuaches, ratones de campo, coyotes, víbora chirrionera, alicantes fueron atropellados.

Abril Flores representó, la imagen de una fábrica con chimeneas humeantes o flamas permanentes, en donde no puede verse el interior de los procesos que ahí ocurren. El molino humano que muele la vida de los campesinos despojados de sus tierras, del que habla Polanyi. El humo negro corona su esquema: la preocupación por la incertidumbre ante la industrialización. (Ver figura 2).



Figura 2. La Fábrica como una prisión. El humo permanente, los olores, el polvo que cubre los magueyes, desató la protesta a principios de los años de 1970, años después la contaminación se hace costumbre.

María Tovar, afirma categórica: ¡cuida el medio ambiente!. Un gran árbol verde protege los juegos de la infancia, la representación de la deforestación como espacio de juego. (Ver figura 3). El desecho de residuos sólidos en la calle, la barranca constituye uno de los principales problemas que presenta la comunidad.

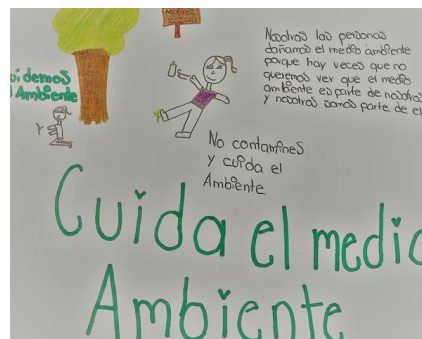


Figura 3. Cuida el medio ambiente, basura, evitar malos olores, no hacer separación de residuos, permite el cuidado del ambiente.

Cabe señalar que, indagando sobre la extinción de especies, a nivel local, a María, la búsqueda la llevo a realizar una entrevista con nosotros, de ahí sus pasos la llevaron a la NOM-059, en sus listados consulto las especies locales que podrían estar a punto de desaparecer en Conejos, su hallazgo fue el ajolote, el cual vivía en la presa Las Trancas.

La Representación de la Presa las Trancas se observa en la figura 4, en un antes, como lo plasma Dayra, rodeada de un campo verde, con cerros en el oriente, arboles, un campo de futbol, una presa llena de agua donde había carpas y ajolotes, en cuatro décadas vino la tala inmoderada, la deforestación, el gris del industrial, la presa seca usada como tiradero de basura y llantas.



Figura 4. Presa Las Trancas, con agua, antes tenía agua, el campo de futbol era verde, había árboles. Hoy en día está llena de llantas y basura

En otro dibujo de una de las niñas, sobresale un conejo vivo entre basura, compuesta de envolturas de comida chatarra, lejanos cerros elevados, un cielo azul, ejemplo de la fauna local y de la toponimia del lugar. (Ver figura 5)



Figura 5. Conejo rodeado de basura, el pueblo inmerso en un tiradero a cielo abierto. Nubes negras coronan el espacio habitable.

En otro de los dibujos se representa El Cerro Soyatla, es el sitio donde se ubican las canteras a cielo abierto de la cementera CEMEX “parece un pastel rebanado” como escalones, son los bancos de piedra caliza, una lluvia de piedras amenazaba las casas de los campesinos producto de las detonaciones. (Ver figura 6).



Figura 6. El Cerro Soyatla, albergó un sitio de cría de ganado menor en los siglos XVI al XVII, el aporte de las canteras sitúa a CEMEX, como una empresa de altas ganancias, el polvo inunda las viviendas aledañas.

La deforestación, el aumento de casas y la cantidad de vehículos que transitan sobre la carretera Tula Refinería, las fábricas y el humo que vierten, representan la síntesis de los procesos que se viven a nivel local y regional. Las fábricas ocupan un lugar preponderante para el empleo de los lugareños. Es lo que expreso Estefanny en su dibujo. (Ver figura 7).



Figura 7. La nueva ruralidad en Conejos Atotonilco de Tula. Problemas que resaltan la tala de árboles y el abuso del automóvil.

El cruce de caminos, la deforestación, la poca fauna silvestre es representada por Hanna Valeria en la figura 8. La carretera ocupa un lugar muy importante, pues el trabajo masculino es ser chofer.



Figura 8. Elementos representativos: la carretera, la fábrica, la deforestación, algunas aves, serpiente y conejo.

Percepción de soluciones.

Ante el problema principal que se trabajó y que así percibieron los niños y las niñas de la primaria local. ¿Qué se puede hacer?, ¿es posible una solución? Las respuestas reflejan la importancia económica que tienen las fábricas, pero también como fuente de contaminación, son respuestas que reflejan las representaciones sociales de la comunidad.

DISCUSION

En general los planes y programas educativos que se imparten por parte del Estado, hacia las comunidades campesinas insertas en el nuevo orden económico, carecen de contenidos que estimulen o fortalezcan una cultura del cuidado del medio ambiente local, y encaminadas a realizar acciones a favor de la sustentabilidad. El espacio escolar debe constituirse como un espacio pedagógico que favorezca la experimentación, la investigación, la consulta en libros, en páginas de internet serias, incentivar la formación del pensamiento crítico, abandonar la cultura de la ficha bibliográfica y la consulta en láminas que recortan y pegan sin leer sus contenidos.

La elaboración grafica constituyen mapas mentales o mapas cognitivos donde los alumnos expresan los componentes más relevantes y valorados, imprimen tanto los aspectos positivos como los

negativos. Codifican y descodifican información acerca de la naturaleza, colocan en el centro de atención el recuerdo, la vivencia de aquellos elementos que le son propios de su entorno.

El análisis de los esquemas elaborados por las niñas, el resultado es más allá de la calidad artística, es su valor un producto cartográfica, ya que en el retratan una problemática socioambiental que debe ser tomada en cuenta para quienes diseñan los programas educativos y para quienes elaboran las políticas públicas en materia ambiental, social y agropecuarias, pues esta grafica nos señala como se relaciona el ser humano con el ambiente, a través de ellos contribuyen a la solución de problemas comunes.

CONCLUSIONES

Aprendí más de mis alumnos, es una frase que se puede aplicar en esta investigación. El desconocimiento tanto de niños como adultos nos da indicio sobre el tipo de arbustos, hierbas, mamíferos, insectos, reptiles, anfibios, nematodos, que era posible encontrarlos hace cinco, cuatro o tres décadas. Impone el reto de realizar un inventario con mayor profundidad. Los cambios radicales en la estructura social del campesinado, la transición de sociedad agrícola-pastoreo a otra con cara urbana-industrial transformaron no solo los antiguos paisajes rústicos, se modificaron también algunas especies emblemáticas como la lagartija lincer, el camaleón, los ajolotes, los jaltomates, las moras, quesitos y guayabitas, el cacomixtle, el tejón, el gato motes, y con ello los conocimientos y la narrativa que giraban en su entorno. La instalación y fortalecimiento de los corredores industriales si bien favorece la región en términos económicos, aún hay una deuda con la población ahí asentada, pues no se generan los empleos suficientes. No se trata de regresar a un pasado mítico, inexistente, sino insertarse en la modernidad con los pies puestos en la tierra y de ahí planear un mejor futuro.

BIBLIOGRAFÍA

1. Angeles J.P. Lluvia de piedras, estrategias de adaptación y resistencia a la vida urbana e industrial de las comunidades rurales del municipio de Atotonilco de Tula, Tesis de Maestría en Desarrollo Rural, UAM-X, 2002.
2. Gudynas, E. y Evia, G. Ecología Social, Editorial Magisterio, Colombia, 1995.
3. E.O. Wilson, the 8 million species we don't know, The New York Times, 3 march, 2018.
4. Kolbert, E. La sexta extinción, Ed. Critica, 2016. España.
5. Long, N. y Roberts B. "Changing rural scenarios and research agendas in Latin America in New Century" New Directions in the Sociology and Development, Vol 11, 2005, 57-90.
6. Narchi, N.E. "No hay espacio para el sujeto social: el conocimiento ecológico local y degradación ambiental en la chinampería del Valle de México" en Canabal C. B. y Olivares D.M.A. Sujetos Rurales, retos y perspectivas de análisis, UAM-X, Itaca, México, 2016, pp. 263-285.
7. Toledo, V.M. Ecocidio en México o. México, Grijalbo, 2015.
8. Polanyi, K. "El Molino Satánico" en La Gran Transformación, 1974, Fondo de Cultura Económica, México.

EVALUACIÓN DEL PROCESO DE DESGOMADO DE ACEITE DE HIGUERILLA PREVIO A LA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL

Macaria Hernández Chávez¹, José Roberto Contreras Bárbara², José Alexis García Cerón², Elizabeth González Bautista², Blanca Eva González Monroy², Abdiel Ramírez Reyes², Keops Xeki García Galván² y Rogelio Cuevas García³

¹Lab. de Química, UPIIH, Instituto Politécnico Nacional, ²Instituto Tecnológico de Atitalaquia,

³Universidad Nacional Autónoma de México.

RESUMEN

Los biocombustibles de segunda generación se han considerado como una alternativa renovable ante el inminente agotamiento de los combustibles fósiles. El aceite obtenido de semillas no comestibles como de *Ricinus communis* se ha demostrado que es una alternativa viable para la producción de biodiesel. En el proceso de obtención de biodiesel, ya sea por reacciones de transesterificación o reacciones catalíticas de hidroxigenación, se ha encontrado que la eficiencia es afectada por la presencia de gomas (fosfolípidos). En este proyecto se planteó un procedimiento de desgomado para los fosfolípidos posteriormente a la extracción del aceite de *Ricinus communis*. El proceso de extracción de aceite a partir de la semilla de *Ricinus communis* se realizó por el método de Soxhlet, posteriormente las muestras de aceite extraído se trataron con 10 % agua desionizada y se calentaron a 100 °C por varios periodos de tiempo. Se pudo observar que a partir de 2 h se formaron las gomas. Posterior a la filtración, las muestras se analizaron por espectroscopia infrarroja FTIR equipada con ATR. El espectro de infrarrojo indicó la presencia de bandas correspondientes a las vibraciones de enlaces de grupos fosfatados provenientes de las gomas, con estos resultados se pudo constatar que se fue posible separar la goma del aceite mediante un proceso sencillo.

INTRODUCCIÓN

El biodiesel es una alternativa para la generación de biocombustible a partir de fuentes renovables (aceites vegetales, grasas animales o reciclados de cocina) por reacciones de transesterificación (Kanakraj y Dixit., 2016). El biodiesel es producido a través de varias reacciones que incluyen ácido-base, enzimas como catalizadores y transesterificación. El principal factor que inhibe la transesterificación representa la presencia de alcoholes, ácidos grasos libres, compuestos acuosos y condiciones como temperatura presión y tiempo de extracción. Los aceites vegetales contienen una cantidad de impurezas como son los fosfolípidos (gomas), agua y ácidos grasos libres los cuales es necesario remover para acondicionar su uso con fines de consumo o proceso tecnológicos. Estas impurezas representan el factor limitante en la producción de altas concentraciones de biodiesel por tanto es importante la purificación a través del desgomado antes de la transesterificación. Algunos autores reportan que las gomas acumuladas potencialmente pueden afectar incluso los procesos mecánicos en la producción de biodiesel. Por otra parte, las materias primas más evaluadas en la producción de biodiesel son los aceites vegetales, dentro de los cuales el aceite de higuera (*Ricinus communis* L.) se presenta como una alternativa viable por su alta concentración de aceite y fácil adaptación en climas tropicales (K. Vinayak *et al*, 2014). Por tanto en este trabajo se evaluó las variables involucradas en el desgomado de aceite de higuera para la producción de biodiesel. De acuerdo con los resultados del estudio antes mencionado se encontró que variables como tiempo de agitación y temperatura de desgomado tienen efecto significativo en la producción másica de goma a partir del aceite de higuera.

TEORÍA

La higuera (*Ricinus communis* L.) crece de forma silvestre en forma de arbusto con un tamaño de 5 a 6 m, se caracteriza por tener tallos huecos y una corteza suave, las semillas están encapsuladas con una cubierta espinosa firme de un tamaño de 2 a 3 cm, cuenta con 3-4 semillas de 1.5 a 2.5 cm por cada cápsula (figura 1). De acuerdo con la concentración de aceite, la semilla de higuera se considera como una oleaginosa y por su contenido de aceite se ha planteado como una fuente importante de materia prima para la obtención de biodiesel (Demirbas *et al.*, 2013).



Figura 1. Higuerrilla (*Ricinus Communis L.*) localizada en Atitalaquia; Hgo.

La semilla de *Ricinus communis* tiene una alta adaptación en una amplia variedad de ecosistemas. La composición específica de su semilla es: aceite al 46 %, almidón al 20 %, albúmina al 0.50 %, goma al 4 %, resina bruta y principios amargos al 2 %, fibra leñosa al 20 % y agua al 7 %. Debido a su alta concentración de aceite se ha propuesto en ésta investigación como una fuente primaria de aceite, la cual se utilizará en una siguiente etapa para desarrollar tecnologías que permitan utilizar el aceite de ricino como materia prima para la obtención de biodiesel que permitiendo satisfacer la creciente demanda energética frente al carácter no renovable del petróleo, generando así, tecnologías alternativas sustentables. El sector energético es la fuente principal para la emisión de gases de efecto invernadero, a través de la combustión de hidrocarburos en industrias que recurren a esta fuente de energía de forma continua. En México, la producción de energéticos genera mecanismos que contribuyen al cambio climático, aunado al hecho de que el petróleo es un recurso no renovable y que la demanda de combustibles mantiene una tendencia de aumento, esto implica la necesidad de buscar fuentes alternativas de energía (Nakarmi y Joshi, 2014).

Con respecto al biodiesel, se produce principalmente en Europa, en su mayor fracción a partir de cultivos oleaginosos como colza, soya, canola y girasol. Las materias primas para producir bioenergéticos a partir de productos agrarios alimenticios se ha manifestado por la escasez del combustible e incrementado la explotación de recurso originando que aunque se ha logrado el desplazamiento de la gasolina con alcohol de caña, en poco tiempo han surgido limitaciones causadas por situaciones, tales como escasez de alcohol por falta de planificación de cosechas, incrementos en la exportaciones y reducciones en los incentivos fiscales para la agricultura (Sacramento, et al., 2010). Se ha encontrado que con el uso de biodiesel se logran reducir las emisiones de monóxido de carbono, azufre, hidrocarburos aromáticos y partículas sólidas contribuyendo así con las necesidades globales en materia de gases de efecto invernadero (Kumar y Sharma, 2016).

El desgomado es un paso importante en el proceso de refinación de aceites ya que elimina el fosfátido (goma) junto con otros compuestos secundarios no deseados sin inhibir los aspectos beneficios. La goma tiende a producir altas pérdidas de refinación, espumación, sedimentación y decoloración del aceite en el proceso y almacenamiento (Prabhakaran y Rakshit., 2009). Durante la síntesis de biodiesel, ácidos grasos y fosfatos, se forma una sustancia pastosa que inhibe la velocidad transesterificación e incrementa los costos de producción, las gomas son fosfáticas (fosfolípidos); ellas tienen una estructura de triglicérido pero contienen un grupo fosfato que sustituye

el tercer ácido graso. Los grupos fosfatos son polares y por tanto forman interacciones con moléculas acuosas. Los fosfolípidos existen en el aceite en dos formas: hidrofílico e hidrofóbico, el grado de hidrofiliidad varia dependiente el número de factores, como la calidad de la semilla y las condiciones de molienda sin embargo el aceite crudo contiene el 90% de compuestos hidrosolubles (fosfatidil colina y fosfatidilinositol). El 10% de compuestos son insolubles y consisten en ácido fosfatídico y fosfatidil etanol amina (Kanakraj y Dixit., 2016).

En los últimos años se han introducido varios conceptos de desgomado para lograr el contenido requerido para el refinado físico, esto incluye el desgomado ácido (ácido fosfórico y ácidos orgánicos), otros tratamientos incluyen el tratamiento enzimático y adición de sal y agentes quelantes. En el caso de los tratamientos ácidos tienen varias desventajas, incluyendo la corrosión de equipos de procesamiento y disminuyen el valor del subproducto y los riesgos ambientales. En este trabajo se empleó el tratamiento con agua y agitación en condiciones de temperatura que favorecen la separación de compuestos parcialmente hidrofílicos en forma de gomas.

PARTE EXPERIMENTAL

En este trabajo se recolectaron semillas de una planta de Higuierilla ubicada en el municipio de Atitalaquia Hidalgo, llevadas al proceso de selección y descascarado para obtener el endodermo el cual contiene el porcentaje mayor de aceite a extraer. Posteriormente se realizó el acondicionamiento que consiste en la molienda y maceración con etanol durante 24 h. Para la extracción del aceite se empleó un equipo Soxhlet con reflujo fijando la temperatura de evaporación del disolvente añadiendo 200 mL de etanol y 100 g de semilla, figura 2A. Para el proceso de desgomado se añadieron 10 mL de aceite adicionando un 5 % de agua destilada, figura 2B, después de 2 h de haber calentado la mezcla binaria a 100 °C se dejó reposar dentro de una hora en condiciones ambientales, luego el aceite se filtró quedando parte de la goma en el papel filtro y otras fracciones en las paredes del matraz. Finalmente el aceite obtenido fue evaluado empleando la técnica de espectroscopia infrarroja Thermo Scientific por Transformadas de Fourier (FT-IR) en modo de reflectancia total atenuada (ATR).

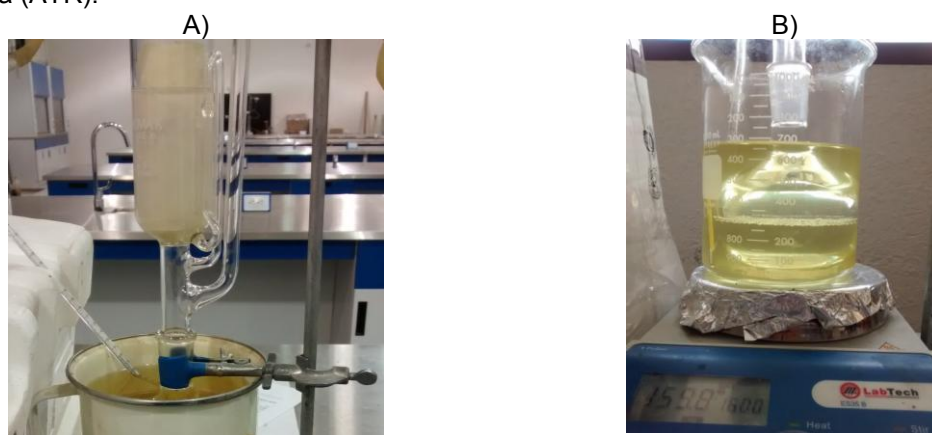


Figura 2. Equipo de extracción Soxhlet (A) y sistema para la separación de gomas del aceite de higuierilla (B).

RESULTADOS

El procedimiento de desgomado con agua a 100 °C del aceite de higuierilla conduce a la formación de gomas, así como se muestra en la figura 3. En el proceso de filtrado parte de goma formada es retenida sin necesidad de equipos sofisticados, indicando que con este método sencillo es posible eliminar las gomas del aceite de *Ricinus communis*.



Figura 3. Gomas adheridas en pared del matraz.

De acuerdo con trabajos relacionados se ha encontrado que las gomas presentes en el aceite inhiben la reacción de transesterificación y la producción de biodiesel, por tanto es indispensable su remoción evitando problemas técnicos derivados de la obstrucción en tuberías y aumenta la producción de biocombustible.

La espectroscopia de infrarrojo FT-IR es una técnica que se emplea en el análisis de aceites extraídos a partir de oleaginosas, ya que existen regiones definidas en el espectro del infrarrojo, donde la absorción de grupos funcionales se registra de forma diferente (Barth *et al.*, 2007). El espectro FT-IR en la región de 700 a 3500 cm^{-1} se presenta en la figura 4, el cual se empleó para analizar los compuestos parcialmente hidrofílicos concentrados como goma de higuera después de la extracción de lípidos. Cabe mencionar que las muestras se analizaron sin lavar el aceite.

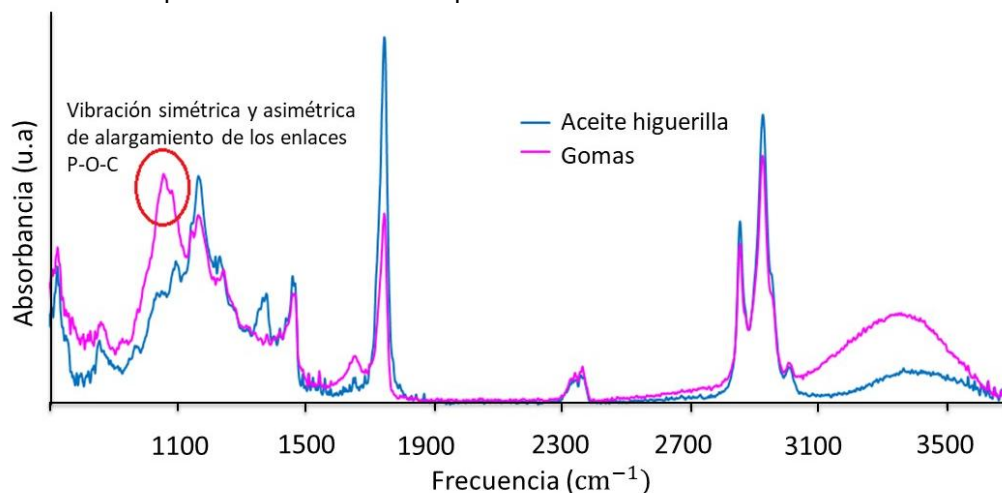


Figura 4. Espectro FTIR de gomas de aceite de Higuera.

Como se observa en la figura 4, en el espectro de infrarrojo aparecen bandas debidas a la formación de las gomas y corresponden al alargamiento de los enlaces fósforo-oxígeno-carbono (P-O-C) en la región de 1000-1100 cm^{-1} , característica de los grupos fosfatados con características polares y por tanto forman interacciones con moléculas acuosas formando gomas que inhiben la reacción de transesterificación y coincide con lo reportado por Nzai y A. Proctor (1998).

CONCLUSIONES

El uso del agua para el proceso del desgomado resulta eficiente para remover parte de fosfolípidos solubles que sedimentan separándolos por precipitación a partir del aceite de higuera.

El método de desgomado genera aceite libre de compuestos hidrofílicos que limitan la reacción de transesterificación, estos compuestos fueron identificados mediante espectroscopia de infrarrojo y corresponden principalmente a compuestos fosfatados.

El proceso de desgomado resulta esencial en la producción de biodiesel ya que favorece a la reacción de transesterificación e hidroxigenación de aceite vegetal para la obtención de diesel verde, ya que la eliminación de las gomas beneficiará la actividad y estabilidad catalítica de los catalizadores que se utilizan en este proceso.

BIBLIOGRAFÍA

1. Barth, "Infrared spectroscopy of proteins" *Biochim. Biophys. Acta*, Vol. 1767, 9, 2007, pp. 1073-1101.
2. Demirbas, "Biodiesel Fuels from Vegetable Oils Via Catalytic and Non-Catalytic Supercritical Alcohol Transesterifications and Other Methods: a survey", *Energy Conversion and Management*, Vol. 44, 13, 2003, pp. 2093-2109.
3. S. Kanakraj, y S. Dixit, "A comprehensive review on degummed biodiesel". *Biofuels*, Vol. 7, 5, 2016, pp. 537-548.
4. M. Kumar, y M. Sharma, "Selection of Potential Oils for Biodiesel Production", *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Vol. 56, 2016, pp. 1129-1138.
5. Nakarmi, S. Joshi, "A Study on Castor Oil and Its Conversion into Biodiesel by Transesterification Method", *Nepal Journal of Science and Technology*, Vol. 15, 2014, pp. 45-52.
6. J. M. Nzai y A. Proctor, "Determination of Phospholipids in Vegetable Oil by Fourier Transform Infrared Espectroscopy". *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Vol. 75, 10, 1998, 1281-1289.
7. M. Prabhakaran y S. K. Rakshit, "Optimize the condition for enzymatic degumming of crude soybean oil", *Tropical Agricultural Research & Extension*, Vol. 12, 2, 2009, pp. 85-88.
8. K. Vinayak, J. Sanchit, K. Faizan, T. Vijayakumar, "Degumming of Pongamia Pinnata by Acid Water Degumming Methods" .*Chem. Tech. Research*, Vol. 6, 8, 2014, pp. 3969-3978.
9. E. D, Wikelson, G. Anthon, M. Burrett, G. Sayajon, "Rapid Assessment of Quality Parameters Using Hand-held and Benchtop Infrared Spectrometers and Multivariate Analysis". *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 61, 2013, pp. 2088-2095.
10. J. Sacramento-Rivero, G. Romero, E. Cortés-Rodríguez, E. Pech, & S. Blanco-Roste Roseter, "Diagnóstico del Desarrollo de Biorefinerías en México". *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, Vol. 9, 3, 2010, p

DISEÑO DE UN COMPUESTO ORGANOMETÁLICO DE RENIO(I) CON POSIBLES PROPIEDADES ANTIPROLIFERATIVAS.

Jill Palacios Escalante,¹ Noé Zúñiga Villarreal,² Martha Sosa Rivadeneyra,³ José Luis Gárate Morales,⁴ Esteban Sánchez Muñoz,⁴ María Obdulía Sánchez Guadarrama*¹

¹ Depto. Q. Inorgánica de la Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP). Av. Sn Manuel, Senda Química, Cdad. Universitaria, 72570, Puebla, Pue., México.

² Depto. Q. Inorgánica del Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Circuito exterior, Insurgentes Sur, Cdad. Universitaria, 04510, Ciudad de México.

³ Centro de Investigación de la Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP). 14 sur Esquina San Claudio, San Manuel, 72570, Puebla, México.

⁴ Depto. Q. Analítica de la Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP). Av. Sn Manuel, Senda Química, Cdad. Universitaria, 72570, Puebla, Pue., México.

RESUMEN

Los compuestos de platino utilizados usualmente en la quimioterapia en el tratamiento del cáncer, poseen diversas desventajas por lo que se ha buscado el uso alternativo de compuestos con otros metales que presenten menores o nulos efectos nocivos en el organismo. Anteriormente, el renio se ha acoplado a biomoléculas, lo que dio paso a estudios que informan que algunos complejos de renio poseen una actividad antiproliferativa comparable o incluso superior a la del cisplatino.¹ Asimismo, derivados de antraceno han demostrado tener potencial para superponerse en el ADN, evitando la replicación de las células cancerosas de crecimiento rápido, además de poseer propiedades fotoluminiscentes.² Con la finalidad de combinar estas características, en el presente trabajo se plantea la coordinación de un derivado del antraceno al cloropentacarbonilrenio(I). El compuesto se obtiene por técnicas Schlenk a reflujo de tolueno durante una hora, esto a partir de un ligante derivado del antraceno, el cual se sinteriza a partir de una secuencia de dos reacciones. La primera es una halogenación³ al antraceno y la segunda una aminación.⁴ El compuesto se estudia por espectroscopia de IR, UV-vis, RMN de ¹H y ¹³C.

INTRODUCCIÓN

Actualmente una de las mayores problemáticas de salud a nivel mundial es el cáncer, junto con el tratamiento que se debe recibir dependiendo de factores como el tipo de neoplasia desarrollada, estadio en el que se encuentra y su ubicación.¹ La cirugía y la radioterapia son las principales modalidades utilizadas en el tratamiento de cánceres localizados, pero muchos pacientes presentan diseminación metastásica, desarrollando cáncer en sitios distantes que no pueden tratarse por estos medios. La quimioterapia citotóxica se ofrece a pacientes con este tipo de cáncer avanzado.² A pesar de tener éxito, los compuestos de platino (cisplatino, carboplatino, oxaliplatino) utilizados en la quimioterapia poseen importantes desventajas: su mayor inconveniente es el hecho de que su objetivo final es el ADN de cualquier célula, por lo que no posee especificidad tumoral además de ser ineficaces contra los tumores resistentes al platino y tener efectos secundarios graves.^{3(a)}

Recientemente, existe un mayor interés en la generación de complejos organometálicos con aplicaciones biológicas, principalmente en el desarrollo de productos farmacéuticos organometálicos⁴ los cuáles podrían utilizarse como ensayos diagnósticos y la síntesis de nuevos compuestos anticancerígenos⁵ con fines terapéuticos, esto mediante el uso de metales alternativos al platino que tengan menores o nulos efectos nocivos en el organismo^{3(b)} (pérdida de cabello, pérdida de audición, mielosupresión, toxicidad ocular, nefrotoxicidad, neurotoxicidad, hepatotoxicidad, reacciones de tipo anafiláctico e hiperuricemia) y que a su vez, aumenten los tipos de tumores tratables al poseer un modo de acción específico del metal.⁶

Los nuevos complejos organometálicos con renio, el cual pertenece al mismo periodo que el platino, ha atraído la atención debido a las características que presenta, como por ejemplo: grandes cambios de Stokes, larga vida útil de las emisiones y alta fotoestabilidad, lo que les permiten ser candidatos atractivos para imágenes ópticas.^{7(a),(b)} Inicialmente, estas características se aprovecharon en el desarrollo de sondas luminiscentes, utilizadas en la microscopia de fluorescencia, que demostraron su utilidad al estudiar el comportamiento de bioconjugados que tienen relevancia biológica en las células.

Debido a la utilidad que supone lo anterior, se intentó realizar su acoplamiento directo a moléculas como biotina, glucosa, folatos, péptidos de permeabilidad celular, vitamina B12 y péptidos de los ácidos nucleicos, lográndose de manera exitosa.^{7(c)} A raíz de esto también existen estudios donde se reportan complejos de renio que poseen una actividad antiproliferativa comparable o incluso superior a la del cisplatino,^{8(a),(b),(c)} donde el tipo de ligantes o moléculas a la que el metal se conjuga también juega un papel crítico en el mecanismo de acción que tiene el compuesto coordinado en su totalidad, ya que dependiendo de su naturaleza y características químicas, determina el sitio específico de la célula donde se actuará.

Por otro lado, se sabe también que los derivados del antraceno, como el ligante propuesto en este trabajo, tienen actividades biológicas significativas contra células tumorales *in vitro*. La Pseudourea fue uno de los primeros ejemplos de fármacos basados en antraceno probados en ensayos clínicos.⁹ Estructuralmente, se conforma de un sistema plano y lineal de tres anillos aromáticos de seis miembros, que ha demostrado tener potencial para superponerse en el ADN,¹⁰ lo que logra inhibir la síntesis de ADN y ARN al intercalarse entre los pares de bases de la cadena, evitando así la replicación de las células cancerosas de crecimiento rápido. Dos derivados del antraceno que han demostrado tener una actividad antiproliferativa son las antraciclina y las antracenodionas. Las primeras se usan en la quimioterapia del cáncer utilizando el mecanismo de acción arriba mencionado,¹¹ mientras que las segundas representan dos clases de intercaladores de ADN de última generación que muestran una gran promesa clínica como fármacos antitumorales.¹²

Otra propiedad importante del antraceno y sus derivados¹³ es que constituyen una clase muy famosa de fluoróforos que se han utilizado ampliamente en el desarrollo de sensores de fluorescencia debido a su excelente propiedad de fotoluminiscencia y estabilidad química.¹⁴ Las sondas de antraceno absorben moderadamente en la región cercana a la radiación UV y dan buenos rendimientos cuánticos de fluorescencia, demostrando su utilidad para controlar la unión del ligante al ADN mediante métodos espectroscópicos.¹⁵

Con la finalidad de combinar las propiedades que presentan los derivados de antraceno y los compuestos carbonílicos de renio, se plantea en el presente proyecto la coordinación de un derivado de antraceno al cloropentacarbonilrenio (I).

TEORÍA

Tanto en química general como en química inorgánica, se ha introducido el nombre de compuestos de coordinación. Estos compuestos constan de un átomo central y ligantes unidos a él, formando así una esfera de coordinación. El átomo central es un metal cualquiera de la tabla periódica, que debido a sus orbitales moleculares vacíos pueden formar diversos enlaces con un ligante, que puede ser una molécula neutra (NH₃, H₂O, piridina, bipyridina, etc.) o un anión (Cl⁻, PO₄³⁻, SO₄²⁻, SCN⁻, etc.). La carga total de la molécula depende del estado de oxidación en el que se encuentre el átomo central y la naturaleza del ligante.¹⁶

Por otro lado, también existen compuestos en los que hay enlaces metal-carbono, los cuales son denominados compuestos organometálicos. Ejemplos de este tipo de compuestos son el ferroceno (π -C₅H₅)₂Fe y los reactivos de Grignard, los cuales son ampliamente usados en síntesis orgánica. Los carbonilos metálicos son de los compuestos más importantes en química inorgánica debido a sus aplicaciones en catálisis, síntesis orgánica y organometálica. Estos se caracterizan por ser dadores σ y aceptores π lo cual les proporciona la capacidad de tener estados de oxidación igual a cero (carbonilos metálicos neutros) o negativos (carbonilos metálicos aniónicos). En general, estos carbonilos tienen un número de electrones de valencia igual a 18, aunque también pueden existir complejos paramagnéticos con 17 electrones.¹⁷

PARTE EXPERIMENTAL

Síntesis del ligante

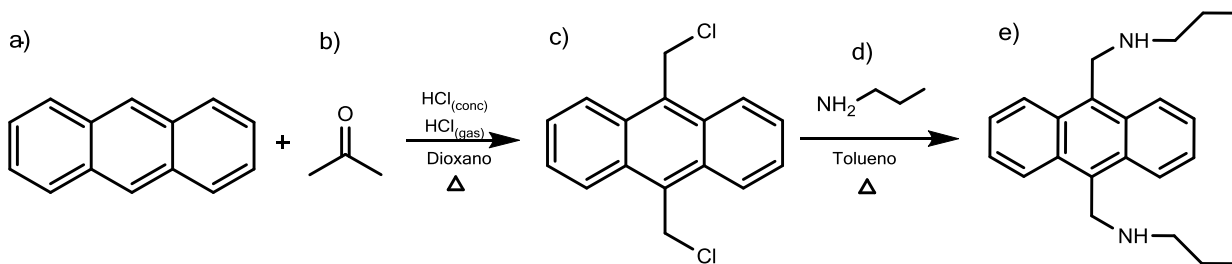
Para la síntesis y obtención del ligante, se realizó una serie de dos reacciones (Esquema 1). Basados en metodologías anteriormente descritas y con algunas modificaciones, se utilizó el antraceno como el reactivo principal de la primera reacción, basada en una halogenación y denominando a este intermediario (DA-1). La segunda se estableció en la formación de un enlace C-N, siendo éste la base estructural del ligante, nombrado como DA-2.

*Obtención de DA-1*¹⁸ [Esquema 1c)].

Se mezcló dioxano (24 ml) con ácido clorhídrico concentrado (4 ml) en agitación constante hasta obtener una mezcla homogénea. A su vez, se inició un burbujeo de cloruro de hidrógeno hacia el sistema por aproximadamente una hora, tiempo necesario para saturarlo. Después, se adicionó paraformaldehído (6.78 gr, 0.2260 mmol) y antraceno (5 gr, 0.0280 mmol) a la mezcla. Entonces, se comenzó el calentamiento hasta que inició el reflujo, el cual se mantiene por 4 horas. Transcurrido el tiempo, se detiene el calentamiento y se deja el sistema en agitación por 16 horas más, continuando con la saturación con cloruro de hidrógeno. La mezcla de reacción se filtró al vacío y el producto se lavó con 40 ml de dioxano, obteniéndose un sólido amarillo brillante. Rendimiento: 80% (3.60 gr). RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 , δ): 5.55 (s, 4H, CH_2), 7.59-7.61 (m, 4H, AnH), 8.31-8.33 (m, 4H, AnH).

Obtención de DA-2¹⁹ [Esquema 1e)]

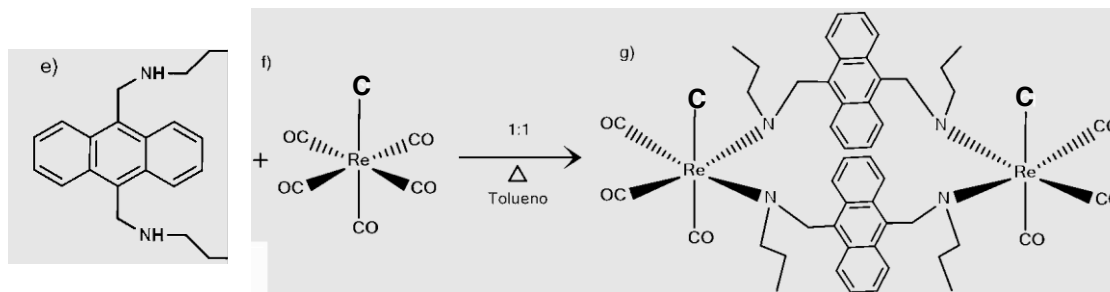
Se colocó el producto de la reacción anterior, DA-1 (0.80 gr, 0.0029 mmol), en tolueno anhidro con agitación constante hasta generar una disolución, después se adicionó lentamente n-propilamina (2.86 ml, 0.0347 mmol) y se comenzó el calentamiento hasta que comenzó un reflujo gentil, el cual se mantiene durante 6 horas. Se observó un cambio de coloración a una mezcla más anaranjada. Una vez cumplido este tiempo, la mezcla de reacción se filtró con vacío a través de celita y posteriormente se eliminó el disolvente para conseguir un sólido amarillo-naranja. Rendimiento: 86.25% (0.69 gr). RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 , δ): 0.89 (t, 6H, CH_3), 1.50 (m, 4H, CH_2), 2.79 (t, 4H, CH_2), 4.65 (s, 4H, CH_2), 7.46-7.48 (m, 4H, AnH), 8.31-8.33 (m, 4H, AnH).



Esquema 1. Reacción general de la síntesis del ligante:
a) Antraceno, b) Paraformaldehído, c) DA-1, d) Propilamina, e) DA-2

Obtención del compuesto organometálico de renio(I) [Esquema 2)]

Bajo condiciones de atmósfera inerte de N_2 se llevó a cabo el siguiente procedimiento: Se colocó el ligante DA-2 (0.2 gr, $7.26 \cdot 10^{-4}$ mmol) junto con el cloropentacarbonilrenio(I) (0.26 gr, $7.26 \cdot 10^{-4}$ mmol) en tolueno anhidro y se comenzó la agitación y el calentamiento hasta llegar al reflujo. La reacción se monitoreó por medio de placa cromatográfica, obteniéndose alícuotas cada 30 minutos hasta observar un cambio de las materias primas hacia un producto. Al cabo de 1 hora se notó la presencia de un precipitado. El producto se filtró con cánula hacia un matraz Schlenck manteniendo las condiciones de atmósfera inerte, obteniéndose un polvo color beige.



Esquema 2. Reacción general de la síntesis del compuesto organometálico:
e) DA-2, f) $\text{ReCl}(\text{CO})_5$, g) $[\text{Re}_2\text{Cl}_2(\text{DA-2})_2]$

RESULTADOS

Para verificar la obtención de los productos (ligante y compuesto organometálico) se realiza su caracterización por medio de técnicas físicas (Tabla 1 y 3) y espectroscópicas (Tabla 2).

Tabla 1. Características físicas de los diferentes productos.

	Referencias			Obtenido	
Compuesto	DA-1 ¹⁸	DA-2 ¹⁹	DA-1	DA-2	[Re ₂ Cl ₂ (DA-2) ₂]
Aspecto	Sólido amarillo	Sólido naranja	Sólido amarillo	Sólido naranja	Sólido beige
Punto de fusión	253-255 °C	111-113 °C	252-254 °C	110-112 °C	247-249 °C (descompone)
Rendimiento	65%	78.5%	80%	--	--

Espectroscopía por Infrarrojo

La espectroscopía infrarroja se llevó a cabo en un equipo "Nicolet", modelo "Magna FT-IR" en soporte de KBr.

Se puede apreciar en el espectro (Figura 1) que el compuesto organometálico, producto de la reactividad entre el ReCl(CO)₅ y el ligante DA-2, presenta bandas intensas en la región de carbonilos metálicos terminales ($\nu = 1850-2120 \text{ cm}^{-1}$), al igual que la materia prima, sin embargo, el patrón de bandas del producto, así como el desplazamiento con respecto al precursor metálico, son diferentes ya que se desplazan hacia menor longitud de onda. A partir de estas observaciones se puede proponer que la coordinación del ligante hacia el centro metálico se llevó a cabo.

Tabla 2. Asignación de bandas de IR para el compuesto [Re₂Cl₂(DA-2)₂]

Compuesto	No. De Bandas	$\nu \text{ (cm}^{-1}\text{)}$		
ReCl(CO) ₅	3 bandas	2155	2042	1957
[Re ₂ Cl ₂ (DA-2) ₂]	2 bandas	2030	1906	

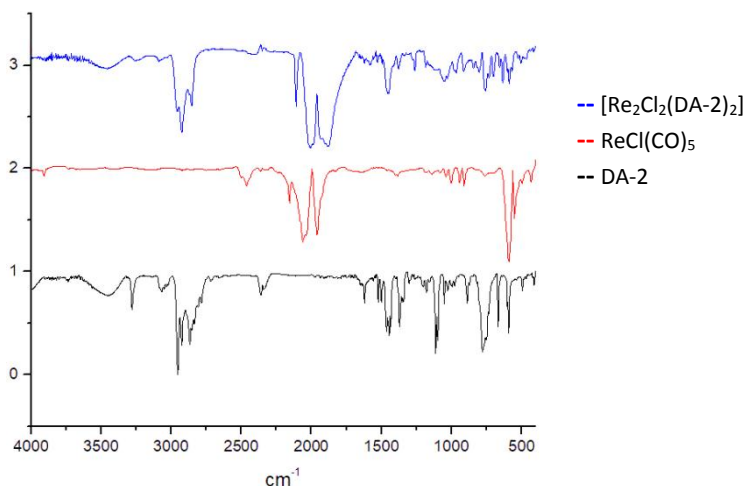


Figura 1. Bandas de IR comparativas: compuesto organometálico y materias primas

Análisis de fluorescencia

Se realizan pruebas de solubilidad en distintos disolventes para posteriormente realizar un estudio de fluorescencia, donde se obtienen los espectros mostrados en las Figuras 3 y 4, que corresponden al ligante y al compuesto organometálico de renio(I), respectivamente.

Tabla 3. Pruebas de solubilidad de DA-2 y el compuesto $[\text{Re}_2\text{Cl}_2(\text{DA-2})_2]$.

Disolvente	Constante dieléctrica	Solubilidad del ligante (DA-2)	Solubilidad del compuesto $[\text{Re}_2\text{Cl}_2(\text{DA-2})_2]$
Tolueno	2.4	Parcialmente soluble	Parcialmente soluble
Éter etílico	3.1	Parcialmente soluble	Parcialmente soluble
Acetato de etilo	6	Soluble	Parcialmente soluble
THF	7.5	Soluble	Soluble
Diclorometano	8.9	Soluble	Soluble
Etanol	16.2	Muy soluble	Muy soluble
Acetona	21.5	Muy soluble	Muy soluble
Metanol	33	Muy soluble	Muy soluble
Acetonitrilo	37.5	Muy soluble	Muy soluble
DMSO	46.7	Muy soluble	Muy soluble

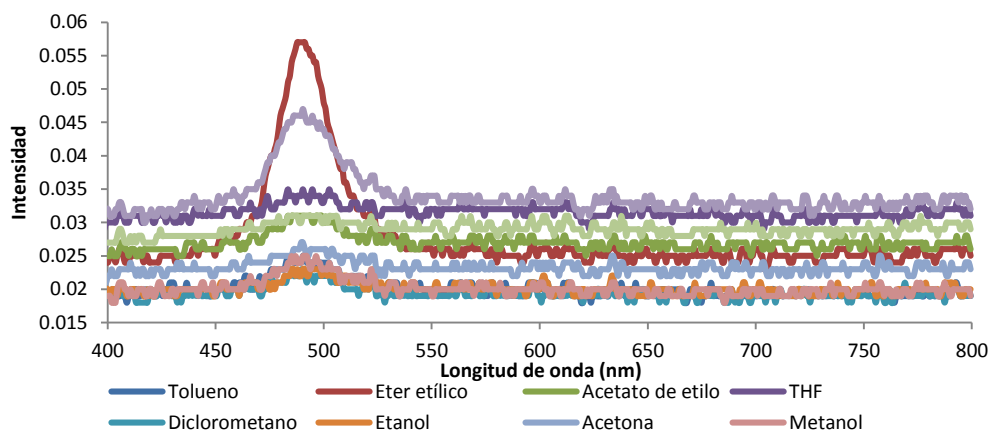


Figura 3. Espectro de fluorescencia del ligante DA-2 en distintos disolventes

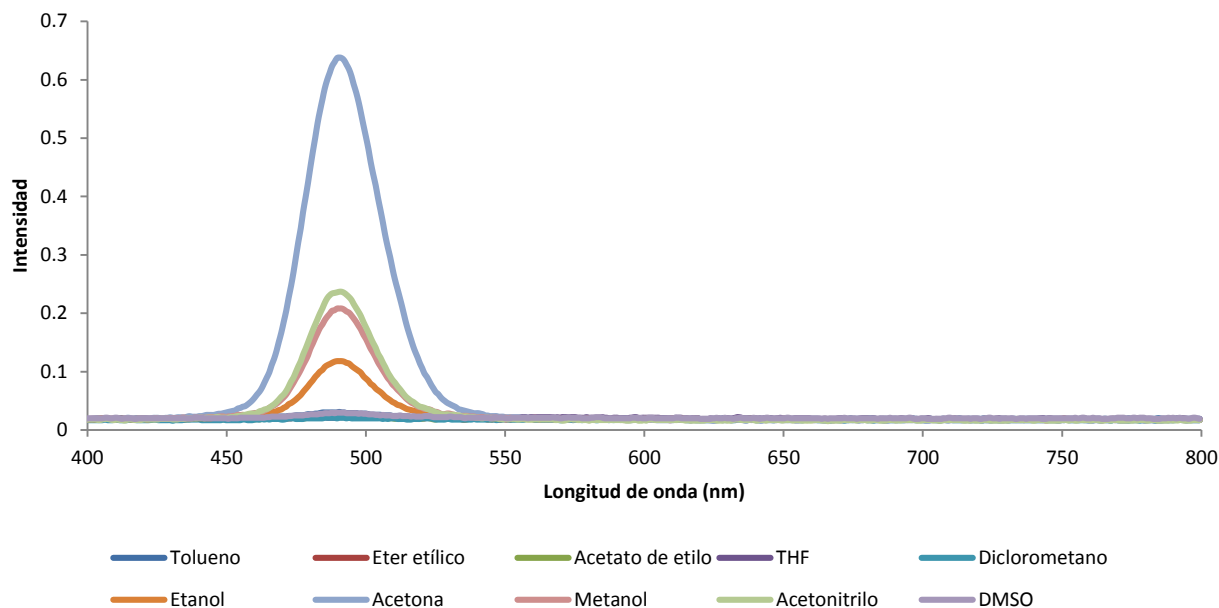


Figura 4. Espectro de fluorescencia del compuesto organometálico en distintos disolventes

En un barrido de la región visible preliminar, se observa que la ventana de emisión presentada en el compuesto organometálico abarca de 460 a 530 nm teniendo un máximo en 490 nm y aunque esto no cambia al usar distintos disolventes, lo que sí se ve afectado es la intensidad presentada donde hay un cambio significativo en comparación con el ligante por sí solo: en el espectro se puede notar que DA-2 (Figura 3) posee una emisión menor con respecto al compuesto organometálico $[\text{Re}_2\text{Cl}_2(\text{DA-2})_2]$ (Figura 4), observando una mayor emisión en acetona al compararlo con todos los demás disolventes, seguida de acetato de etilo, metanol y etanol. Estas observaciones son indicativas de que la presencia del metal juega un papel importante en el comportamiento luminiscente, además de que es sensible a la polaridad de los disolventes. En general, los fluoróforos polares muestran una gran sensibilidad a la polaridad del disolvente y las moléculas apolares son muchos menos sensibles a ésta, afectando así la diferencia de energía entre el estado fundamental y el excitado.²¹

CONCLUSIONES

Las características físicas, así como las espectroscópicas dan indicios de la obtención de un compuesto organometálico de renio(I) que contiene en su esfera de coordinación un ligante derivado del antraceno.

El análisis de fluorescencia sugiere que el nuevo compuesto organometálico mantiene la luminiscencia expresada por el ligante precursor y que ésta incluso se ve favorecida al coordinarse con un metal, volviendo al nuevo producto un candidato idóneo para pruebas de microscopía de fluorescencia y/o como agente antiproliferativo.

BIBLIOGRAFÍA

- Leonidova, A., & Gasser, G. (2014). Underestimated potential of organometallic rhenium complexes as anticancer agents. *ACS chemical biology*, 9(10), 2180-2193.
- Corrie, P. G. (2011). Cytotoxic chemotherapy: clinical aspects. *Medicine*, 39(12), 717-722.

3. Gasser, G., Ott, I., & Metzler-Nolte, N. (2010). Organometallic anticancer compounds. *Journal of medicinal chemistry*, 54(1), 3-25. (b) Medley, J., Payne, G., Banerjee, H. N., Giri, D., Winstead, A., Wachira, J. M., & Mandal, S. K. (2015). DNA-binding and cytotoxic efficacy studies of organorhenium pentylcarbonate compounds. *Molecular and cellular biochemistry*, 398(1-2), 21-30.
4. Allardyce, C. S., Dorcier, A., Scolaro, C., & Dyson, P. J. (2005). Development of organometallic (organo-transition metal) pharmaceuticals. *Applied organometallic chemistry*, 19(1), 1-10.
5. Han Ang, W., & Dyson, P. J. (2006). Classical and non-classical ruthenium-based anticancer drugs: Towards targeted chemotherapy. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2006(20), 4003-4018.
6. Jakupec, M. A., Galanski, M., Arion, V. B., Hartinger, C. G., & Keppler, B. K. (2008). Antitumour metal compounds: more than theme and variations. *Dalton transactions*, (2), 183-194.
7. Lee, L. C. C., Leung, K. K., & Lo, K. K. W. (2017). Recent development of luminescent rhenium (I) tricarbonyl polypyridine complexes as cellular imaging reagents, anticancer drugs, and antibacterial agents. *Dalton Transactions*, 46(47), 16357-16380. (b) Amoroso, A. J., Coogan, M. P., Dunne, J. E., Fernández-Moreira, V., Hess, J. B., Hayes, A. J., & Williams, C. (2007). Rhenium *fac*-tricarbonyl bisimine complexes: biologically useful fluorochromes for cell imaging applications. *Chemical communications*, (29), 3066-3068. (c) Leonidova, A., Pierroz, V., Rubbiani, R., Heier, J., Ferrari, S., & Gasser, G. (2014). Towards cancer cell-specific phototoxic organometallic rhenium (I) complexes. *Dalton Transactions*, 43(11), 4287-4294.
8. Zhang, J., Vittal, J. J., Henderson, W., Wheaton, J. R., Hall, I. H., Hor, T. A., & Yan, Y. K. (2002). Tricarbonylrhenium (I) complexes of phosphine-derivatized amines, amino acids and a model peptide: structures, solution behavior and cytotoxicity. *Journal of organometallic chemistry*, 650(1), 123-132. (b) Bartholomä, M. D., Vortherms, A. R., Hillier, S., Ploier, B., Joyal, J., Babich, J., & Zubieta, J. (2010). Synthesis, cytotoxicity, and insight into the mode of action of Re (CO) 3 thymidine complexes. *ChemMedChem*, 5(9), 1513-1529. (c) Ho, J., Lee, W. Y., Koh, K. J. T., Lee, P. P. F., & Yan, Y. K. (2013). Rhenium (I) tricarbonyl complexes of salicylaldehyde semicarbazones: synthesis, crystal structures and cytotoxicity. *Journal of inorganic biochemistry*, 119, 10-20.
9. Carter, S. K., Rall, D., Schein, P., Davis, R. D., Wood, H. B., Engle, R., & Zubrod, C. G. Psuedourea; National Cancer Chemotherapy Institute Clinical Brochure No. *NSC56054*, 2.
10. Becker, H. C., & Norden, B. (1999). DNA binding mode and sequence specificity of piperazinylocarbonyloxyethyl derivatives of anthracene and pyrene. *Journal of the American Chemical Society*, 121(51), 11947-11952.
11. de Silva, S. A., Zavaleta, A., Baron, D. E., Allam, O., Isidor, E. V., Kashimura, N., & Percarpio, J. M. (1997). A fluorescent photoinduced electron transfer sensor for cations with an off-on-off proton switch. *Tetrahedron letters*, 38(13), 2237-2240.
12. Fry, D. W. (1991). Biochemical pharmacology of anthracenediones and anthrapyrazoles. *Pharmacology & therapeutics*, 52(1), 109-125.
13. Descalzo, A. B., Jiménez, D., El Haskouri, J., Beltrán, D., Amorós, P., Marcos, M. D., & Soto, J. (2002). A new method for fluoride determination by using fluorophores and dyes anchored onto MCM-41. *Chemical Communications*, (6), 562-563.
14. Nilsson, K. P. R., & Inganäs, O. (2003). Chip and solution detection of DNA hybridization using a luminescent zwitterionic polythiophene derivative. *Nature materials*, 2(6), 419-424.
15. Kumar, C. V., & Asuncion, E. H. (1993). DNA binding studies and site selective fluorescence sensitization of an anthryl probe. *Journal of the American Chemical Society*, 115(19), 8547-8553.
16. Basolo, F.; Johnson, Ronald. Introducción y desarrollo histórico: Química de los compuestos de coordinación, Primera Edición. Editorial Reverté: Barcelona, 1964, pp 7-12.
17. Astruc, Didier. (2003) Carbonilos metálicos y complejos de ligando L monohapto: Química organometálica. Editorial Reverté: España, 155-176.

18. Miller, M. W., Amidon, R. W., & Tawney, P. O. (1955). Some meso-Substituted Anthracenes. I. 9, 10-Bis-(chloromethyl)-anthracene as a Synthetic Intermediate. *Journal of the American Chemical Society*, 77(10), 2845-2848.
19. Liu, Q. X., Song, H. B., & Li, Z. M. (2004). 9, 10-Bis (propylammoniomethyl) anthracene dichloride. *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*, 60(5), o777-o778
20. (a) Raikar, U. S., Renuka, C. G., Nadaf, Y. F., Mulimani, B. G., Karguppikar, A. M., & Soudagar, M. K. (2006). Solvent effects on the absorption and fluorescence spectra of coumarins 6 and 7 molecules: determination of ground and excited state dipole moment. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 65(3-4), 673-677. (b) Cossello, R. F., Akcelrud, L., & Atvars, T. D. Z. (2005). Solvent and molecular weight effects on fluorescence emission of MEH-PPV. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 16(1), 74-86.
21. Otero, B. R. (2007). Estudio estructural y dinámico de sistemas organizados mediante sondas fluorescentes. Univ Santiago de Compostela, 17-34.

ANEXOS

Equipos

Los espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C se obtuvieron en equipos de RMN "Bruker de 500 MHz", los desplazamientos químicos se expresan en ppm empleando TMS como referencia interna.

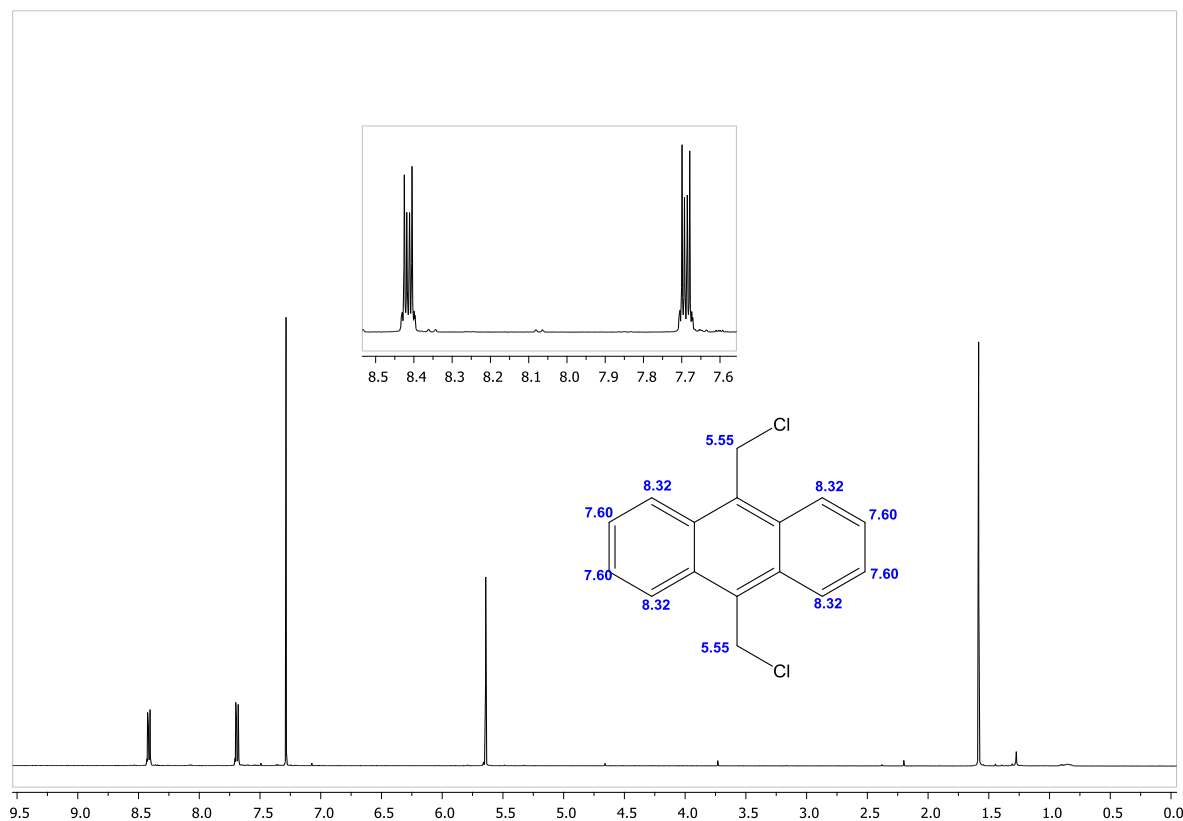


Figura 1. Espectro de RMN- ^1H de DA-1 en CDCl_3 .

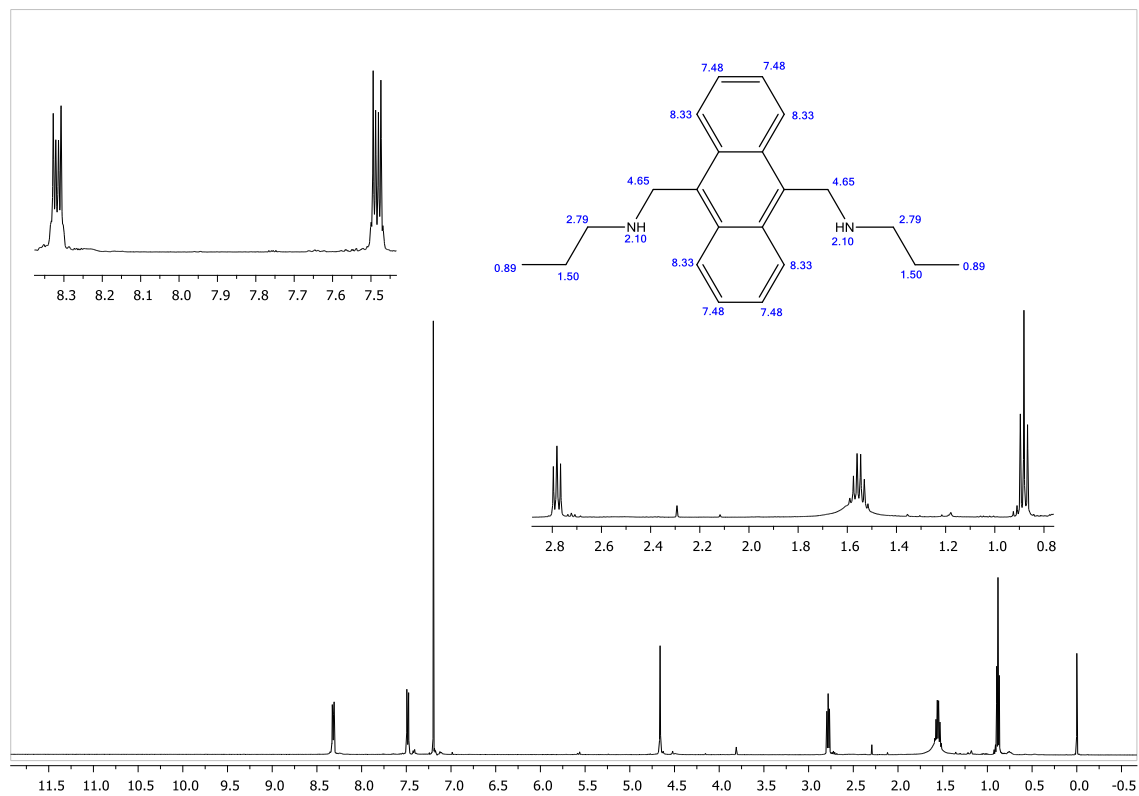


Figura 2. Espectro de RMN- ^1H de DA-2 en CDCl_3 .

OBTENCIÓN Y ESTUDIO DE NUEVAS FASES SÓLIDAS DEL INGREDIENTE FARMACÉUTICO ACTIVO SECNIDAZOL

Javier Hernández Illescas, Karina Mondragón Vásquez, Jorge Guillermo Domínguez Chávez.

Universidad Veracruzana Facultad de Bioanálisis Veracruz.

RESUMEN

La mayoría de los Ingredientes Farmacéuticos Activos (IFAs) son administrados en forma de sólidos, sin embargo, un alto porcentaje de estos presentan propiedades no deseadas como baja solubilidad, alta higroscopicidad y baja estabilidad. Una estrategia para mejorar las propiedades fisicoquímicas y biofarmacéuticas de los IFAs es modificar su estructura en el estado sólido, por ejemplo, formando sales, co-cristales, polimorfos, amorfos y co-afamorfos. Al respecto, la producción de nuevas fases sólidas (NFS) a partir de un IFA y un coformador (molecular de bajo peso molecular, inocua para el organismo) es una estrategia interesante para mejorar dichas propiedades. En el presente trabajo se exploró la posibilidad de formar NFS a partir de mezclas equimolares del IFA secnidazol con coformadores derivados de ácidos hidroxibenzoicos (AHBZ) utilizando las metodologías de formación de un slurry en agua, la reacción mecanoquímica en agua y la evaporación lenta del disolvente en metanol. En este estudio generaron siete co-cristales con los ácidos 3-HBZ, 4-HBZ, 2,4-DHBZ, 2,5-DHBZ, 3,4-DHBZ, 3,5-DHBZ y 3,4,5-THBZ y dos sales con los ácidos 2,3-DHBZ y 2,6-DHBZ con estequiometrias 1:1 para la mayoría de las fases y en donde se presentan interacciones de puente de hidrogeno y en algunos casos interacciones aromáticas. La caracterización estructural y térmica de las NFS se realizó por difracción de rayos X de monocristal y de polvos, por espectroscopia infrarroja (FTIR), análisis termogravimétrico y calorimetría de barrido diferencial. Finalmente, los estudios de velocidad de disolución y solubilidad de las NFS en medios acuosos mostraron mejoras significativas en comparación con el IFA libre.

INTRODUCCION

De los tres estados de la materia, el que predomina comercialmente en la industria farmacéutica es el sólido. La mayoría de los materiales farmacéuticos, tanto principios activos (IFAs) como excipientes, así como las formas farmacéuticas (capsulas, tabletas, etc.) son sólidas a temperatura ambiente. Esto es relevante, ya que las propiedades físicas, químicas y reológicas de un IFA en estado sólido tienen importantes implicaciones en el desarrollo, en el procesamiento, en la formulación e incluso en la eficacia de los productos farmacéuticos. Dos de las propiedades más importantes de los IFAs son la solubilidad y la velocidad de disolución, las cuales pueden influir de manera determinante en parámetros tan importantes como la biodisponibilidad y por ende en la eficacia terapéutica. Una estrategia para modificar y en su caso mejorar las propiedades fisicoquímicas y biofarmacéuticas de los IFAs, sin alterar su estructura química, es generar co-cristales que se obtienen de la interacción intermolecular de un IFA con un coformador que es una molécula de bajo peso molecular y relativamente inocua para el organismo.¹ En este trabajo el IFA estudiado fue secnidazol (2-dimetil-5-nitro-1H-imidazol-1-etanol, figura 1) es un derivado de los 5-nitroimidazoles utilizada en el tratamiento de la giardiasis, la amebiasis y la trichomoniasis vaginal. Este IFA es higroscópico, presenta degradación fotoquímica y en medio básico forma productos de descomposición.² Los coformadores utilizados para la generación de nuevas fases sólidas (NFS) co-cristalinas de secnidazol fueron moléculas derivadas del ácido n-hidroxibenzoico (n-HBZ). En donde, como resultado se generaron nueve nuevas fases sólidas (NFS) cristalinas del IFA secnidazol en combinación del IFA secnidazol con cada uno de los ácidos n-hidroxibenzoicos (3-HBZ, 4-HBZ, 2,3-DHBZ, 2,4-DHBZ, 2,5-DHBZ, 2,6-DHBZ, 3,4-DHBZ, 3,5-DHBZ y 3,4,5-THBZ); en donde cada NFS mostró propiedades de solubilidad y velocidad de disolución diferentes a la del IFA secnidazol.

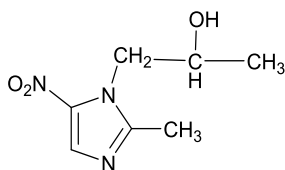


Figura 1. Estructura molecular del IFA secnidazol (Sec)

EXPERIMENTACIÓN

Para la generación de NFS con los derivados de ácidos n-hidroxibenzoicos (n-HBZ) se utilizó la metodología de slurry en agua, la reacción mecanoquímica en agua y la evaporación lenta del disolvente en metanol. La caracterización estructural de los sólidos obtenidos se realizó por difracción de rayos X y por espectroscopia infrarrojo; la caracterización térmica se realizó por calorimetría de barrido diferencial y por análisis termogravimétrico; también se realizaron estudios de solubilidad, velocidad de disolución y de estabilidad en medios fisiológicamente relevantes (HCl, pH 1.2; acetato, pH 4.5 y; fosfato pH 6.8) y además se realizaron estudios de estabilidad física indicativa a 40°C y 50°C con 0% de humedad relativa (HR) y a 50°C con 75% de HR.

RESULTADOS

La caracterización inicial de las NFS se realizó por difracción de rayos X de polvos, en donde el cambio en el patrón de difracción del sólido obtenido después de la reacción de slurry en relación con las materias indica un cambio de fase. En la figura 2 se muestra un ejemplo de la comparación del patrón de difracción de las materias primas (fármaco y coformador) y de los sólidos obtenidos a diferente relación estequiométrica fármaco:coformador de la fase Sec:Ac.3,4,5 DHBZ (2:1, 1:1 y 1:2), en cada estudio, la fase pura no muestra picos de difracción de las materias primas, mientras que fases que contienen exceso de alguno de los componentes (coformador (■) ó fármaco (●)) muestran los picos de difracción correspondientes a estos. Un análisis similar se realizó con todas las muestras y en donde los patrones de difracción a diferente relación estequiométrica indican que las fases de secnidazol que contienen a los ácidos 3-HBZ, 4-HBZ, 2,3-DHBZ, 2,5-DHBZ, 2,6-DHBZ, 3,4-DHBZ, 3,5-DHBZ y 3,4,5-THBZ exhiben una estequiometría 1:1, mientras que la fase que contiene al ácido 2,4-DHBZ exhibe una relación estequiométrica 2:1 fármaco:coformador.

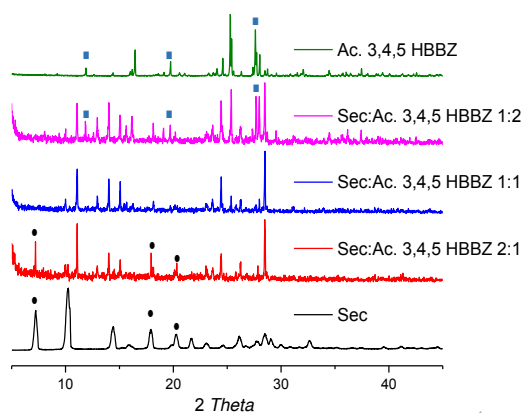


Figura 2. Difracción de Rayos X de polvos de diferentes estequiometrías de la NFS Sec:Ac. 3,4,5-THBZ. secnidazol (negro, abajo, ●); Ac. 3,4,5-THBZ (verde, arriba, ■); estequiometrías fármaco:coformador 2:1 (rojo), 1:1 (azul rey) y 1:2 (rosa).

Cabe mencionar que la obtención de las NFS de secnidazol es reproducible utilizando el método de slurry, la reacción mecanoquímica ó la evaporación lenta (ver ejemplo en la figura 3) excepto para la fase que contiene al ac. 3,4 DHBZ en donde se obtuvieron la misma fase a partir del slurry y de la

reacción mecanoquímica, pero estas no son comparables con la fase obtenida por evaporación lenta (figura 3).

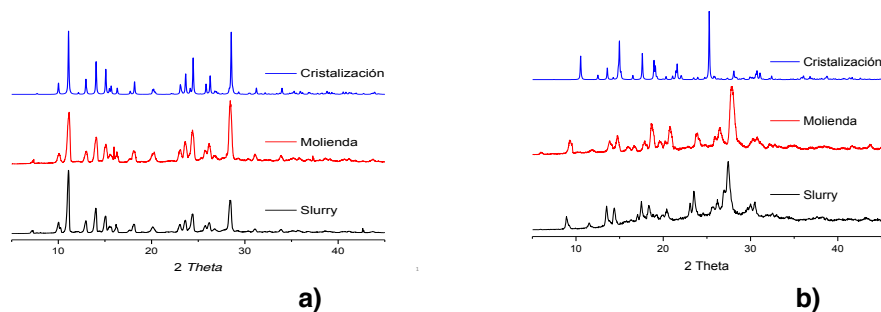


Figura 3. Comparación de los Difractogramas de las fases a)Sec-3,4,5-THBZ y b)3,4-DHBZ obtenidas por evaporación lenta (azul, arriba), por reacción mecanoquímica (rojo, medio) y por slurry (negro, abajo).

Caracterización de las nuevas fases sólidas de secnidazol por espectroscopía infrarroja (IR-FTIR). Una herramienta útil para la caracterización de las NFS obtenidas es la espectroscopía infrarroja, que es sensible a la formación de interacciones intermoleculares como los puentes de hidrógeno. Para el análisis por espectroscopia IR de las NFS se monitoreo principalmente el desplazamiento de la banda de vibración del grupo carbonilo del coformador. Los espectros infrarrojos de las NFS se compararon con el de las materias primas (que también se sometieron a las condiciones de reacción) y su comparación se muestra en la tabla 1 de donde es visible que la mayoría de estas bandas tienen un desplazamiento importante a menores o a mayores frecuencias. Un desplazamiento a menores números de onda, para las fases que contienen a los ácidos 4-HBZ, 2,3-DHBZ, 2,5-DHBZ, 2,6-DHBZ, 3,5-DHBZ y 3,4,5-DHBZ, evidencia la participación del grupo carbonilo en la generación de estas NFS y la formación de puentes de hidrógeno fuertes. Por otro lado, se observa un desplazamiento a mayores números de onda para las NFS que contienen a los ácidos 3-HBZ, 2,4-DHBZ, y 3,4-DHBZ de lo que sugiere que el grupo carbonilo presenta interacciones más débiles en presencia del fármaco que las que establecida en el dímero coformador:coformador puro. Del análisis es importante resaltar un desplazamiento de 66 cm^{-1} a menores frecuencias para la fase secnidazol:ac. 2,6-DHBZ. Este cambio tan grande sugiere la formación de una sal y no de un co-cristal, en donde el desplazamiento 1612 cm^{-1} está en el intervalo de desplazamiento característico para el enlace C-O del grupo carboxilato. La misma observación, pero con un menor desplazamiento se observa para la fase con el ácido 2,3-DHBZ con un desplazamiento de la banda del grupo carbonilo de 27 cm^{-1} .

Tabla 1.- Espectroscopia de infrarrojo de los desplazamientos del grupo carbonilo.

NFS	Desplazamiento de la NFS	Desplazamiento del Co-formador	Diferencia en el desplazamiento NFS/coformador
Sec-Ac. 3-HBZ	1690 cm^{-1}	1682 cm^{-1}	8 cm^{-1} (a mayores frecuencias)
Sec-Ac. 4-HBZ	1662 cm^{-1}	1671 cm^{-1}	9 cm^{-1} (a menores frecuencias)
Sec-Ac. 2,3-DHBZ	1652 cm^{-1}	1678 cm^{-1}	27 cm^{-1} (a menores frecuencias)
Sec-Ac. 2,4-DHBZ	1654 cm^{-1}	1641 cm^{-1}	11 cm^{-1} (a mayores frecuencias)
Sec-Ac. 2,5-DHBZ	1662 cm^{-1}	1667 cm^{-1}	5 cm^{-1} (a menores frecuencias)
Sec-Ac. 2,6-DHBZ	1612 cm^{-1}	1678 cm^{-1}	66 cm^{-1} (a menores frecuencias)
Sec-Ac. 3,4-DHBZ	1675 cm^{-1}	1667 cm^{-1}	8 cm^{-1} (a mayores frecuencias)
Sec-Ac. 3,5-DHBZ	1682 cm^{-1}	1694 cm^{-1}	12 cm^{-1} (a menores frecuencias)
Sec-Ac. 3,4,5-THBZ	1682 cm^{-1}	1697 cm^{-1}	15 cm^{-1} (a menores frecuencias)

Caracterización por difracción de Rayos X de monocristal de las NFS del secnidazol. En cuanto a la caracterización por difracción de rayos x de monocristal, únicamente fue posible para las NFS con que contienen a los ácidos 3,4,5-THBZ, 3,5-DHBZ, 3,4-DHBZ, 2,6-DHBZ, 2,5-DHBZ, 2,4-DHBZ 2,3-

DHBZ y 3-HBZ, que fueron con los que se obtuvieron cristales de la calidad suficiente para realizar este estudio. El resumen de los datos obtenidos se muestra en la tabla 2.

Tabla 2.-Datos de las estructuras cristalinas obtenidos por difracción de rayos X de monocristal.

DATOS CRISTALALINOS	Secnidazol hemihidratado	Sec-Ac.3,4,5-THBZ	Sec-Ac. 3,5-DHBZ	Sec-Ac. 3,4-DHBZ	Sec-Ac. 2,6-DHBZ	Sec-Ac. 2,5-DHBZ	Sec-Ac. 2,4-DHBZ	Sec-Ac. 2,3-DHBZ	Sec-Ac. 3-HBZ
Fórmula Empírica	C ₇ H ₁₁ N ₃ O ₃ ·0.5 H ₂ O	C ₇ H ₁₁ N ₃ O ₃ ·C ₇ H ₆ O ₅	C ₇ H ₁₁ N ₃ O ₃ ·C ₇ H ₆ O ₄ ·H ₂ O	C ₇ H ₁₁ N ₃ O ₃ ·C ₇ H ₆ O ₄	C ₇ H ₁₂ N ₃ O ₃ ·C ₇ H ₆ O ₄	C ₇ H ₁₁ N ₃ O ₃ ·C ₇ H ₆ O ₄	2(C ₇ H ₁₁ N ₃ O ₃)·C ₇ H ₆ O ₄	C ₇ H ₁₂ N ₃ O ₃ ·C ₇ H ₆ O ₄ ·0.5(H ₂ O)	C ₇ H ₁₁ N ₃ O ₃ ·C ₇ H ₆ O ₅
Sistema Cristalino	Monoclínico	Triclinico	Monoclínico	Triclinico	ortorrómbico	Monoclínico	Triclinico	Monoclínico	Triclinico
Dimensiones de la celda unitaria	a=12.4224(2) Å b= 12.187(2) Å c= 6.862(1) Å α=90° β= 100.9° γ= 90°	a= 7.634(10) Å b= 9.5103(12) Å c= 11.8079 (5) Å α=100.497° β= 95.751° γ= 107.042°	a= 6.9665(9) Å b= 15.3652(19) Å c= 15.5410(19) Å α=90° β= 90.764° γ= 90°	a= 7.6082(3) Å b= 9.5747(4) Å c= 12.5920(5) Å α=70.053° β= 85.269° γ= 68.496°	a= 7.2883(10) Å b= 14.310(2) Å c= 14.532(2) Å α=90° β= 90° γ= 90°	a= 17.52(6) Å b= 9.54(3) Å c= 20.37(9) Å α=90° β= 111.86° γ= 90°	a= 10.1662(5) Å b= 11.1210(6) Å c= 12.7858(6) Å α=89.568° β= 69.346° γ= 68.059°	a= 7.1627(5) Å b= 15.5154 (11) Å c= 14.9280 (10) Å α=90° β= 101.65° γ= 90°	a= 30.01 (6) Å b= 6.67 (10) Å c= 15.43 (3) Å α=90° β= 90° γ= 90°
Volumen	990.504 Å ³	791.90 Å ³	1663.39 Å ³	801.28 Å ³	1515.62 Å ³	3162.91 Å ³	1241.74 Å ³	1624.78 Å ³	3087.23 Å ³

El análisis estructural realizado con NFS indica la obtención de co-cristales estabilizados por interacciones por puente de hidrógeno con el ácido 3,4,5-THBZ, 3,5-DHBZ, 3,4-DHBZ, 2,5-DHBZ, 2,4-DHBZ y 3-HBZ en donde además para las fases 3,4,5-THBZ, 3,5-DHBZ y 2,4-DHBZ se observa el establecimiento de interacciones aromáticas a distancias aproximadas de 3 Å en donde participan el anillo de imidazol del fármaco y el anillo bencénico del coformador y es favorecida por la atracción electrostática generada por la naturaleza electrodeficiente del anillo de imidazol y la naturaleza rica en densidad electrónica del conformador. En cuando a la relación estequiometrica IFA:coformador, los co-cristales formados con los ácidos 3,4,5-THBZ, 3,4-DHBZ y 2,5-DHBZ (figura 3) tienen una estequiometria 1:1 mientras que la NFS que contiene al ac. 2,4-DHBZ presenta una estequiometria 2:1(F:C) y finalmente las fases que contienen al ac. 3,5-DHBZ y al 3-HBZ son de hidratos de co-cristal con una estequiometria 1:1:1 y 1:1:0.5 (F:C:Agua) respectivamente.

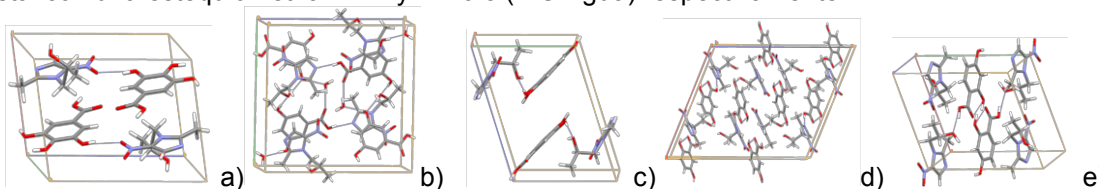


Figura 3. Co-cristal Secnidazol:ác. a)3,4,5-THBZ, b)3,5-DHBZ, c)3,4-DHBZ, d)2,5-DHBZ y e)2,4-DHBZ.

Con la técnica de evaporación lenta del disolvente también se obtuvieron NFS con el ácido 2,6-DHBZ y 2,3-DHBZ (figura 4), en donde en estas fases a diferencia de las mostradas con anterioridad se observa la transferencia del protón del ácido carboxílico del coformador al nitrógeno del anillo del imidazol del fármaco generando un anión carboxilato y un catión imidazolío. En ambos casos, se observa el establecimiento de interacciones aromáticas y de puente de hidrogeno con estequiometrias 1:1:0 y 1:1:0.5 (fármaco:coformador:agua) para las fases que contienen a los ácidos 2,6-DHBZ y 2,3-DHBZ respectivamente. La transferencia de protón es consecuencia de la alta acidez de estos ácidos con pks de 1.22 y de 2.91 para los ácidos 2,6-DHBZ y 2,3-DHBZ respectivamente.

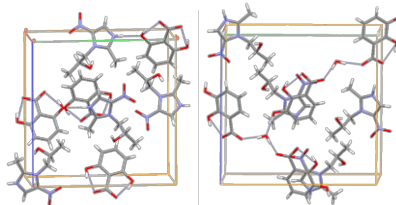


Figura 4. Co-cristal Secnidazol:ác. 2,6 DHBZ y Secnidazol:ác. 2,3 DHBZ (izquierda a derecha).

Análisis Térmico Termogravimétrico (TGA) y Calorimetría Diferencial de Barrido (DCS) de las NFS del secnidazol. Con el análisis térmico (DSC y TGA) se establece una relación entre el

comportamiento térmico y las propiedades físicas de un sólido, como son puntos de fusión, puntos de descomposición y contenido de disolvente, entre otros. El análisis TGA y por DSC de las NFS se realizó comparándolas con la del secnidazol puro y los resultados se muestran en la tabla 3 en donde se observa para las fases que contienen a los ácidos 3,5-DHBZ y 2,3-DHBZ una pérdida de masa de aproximadamente 5% a temperaturas menores de 80°C que corresponde a la masa de una molécula de agua y concuerda con lo observado en la estructura cristalina. Sin embargo, para la fase que contiene al coformador 3,4-DHBZ por análisis termogravimétrico se observa una pérdida de masa del 5% que corresponde a la pérdida de masa de una molécula de agua, sin embargo, en la estructura cristalina no se observa la presencia de moléculas de agua, por lo que no corresponden a la misma fase. Esto explica que no corresponda el patrón de difracción de los sólidos obtenidos por las diferentes técnicas (figura 3) como se mostró con anterioridad. Cabe mencionar que las fases formadas con los ácidos 3,4,5-THBZ, 2,6-DHBZ, 2,5-DHBZ y 2,4-DHBZ que no contienen disolvente (agua) en su red cristalina, tienen pérdidas de masa cercanos o superiores al 90% de la masa por arriba de 100 °C, lo que sugiere que la descomposición de la fase es como co-cristal o la sal correspondiente y no hay separación previa de los componentes (fármaco coformador). Por otro lado, la fase que contienen al ác. 4-HBZ, que tampoco contiene disolvente en su red cristalina, tiene pérdidas de masa por debajo de 100 °C siendo menos estables térmicamente y, la fase que contiene al ácido 3-HBZ muestra pérdida inicial del 41% y posteriormente del 53% que corresponde primero a la pérdida del coformador y posteriormente a la pérdida del fármaco lo que indica que la fase co-cristalina se descompone a las materias con el incremento de temperatura, de lo que se sugiere que no es estable térmicamente. En cuanto al análisis por DSC (tabla 3) se observan puntos de fusión con descomposición, para las fases que contienen a los ácidos 3,4,5-THBZ, 2,6-DHBZ, 2,5-DHBZ y 2,4-DHBZ a temperaturas superiores al punto de fusión de fármaco que es de 73.7°C, además se observan picos endotérmicos debido a la pérdida de disolvente para las fases que contienen a los ácidos 3,5-DHBZ, 3,4-DHBZ y 2,3-DHBZ que de acuerdo al TGA corresponden a hidratos de las NFS obtenidas. Y finalmente para las fases que contienen a los ácidos 3-HBZ y 4-HBZ se observan puntos de fusión menores a los del fármaco puro, pero con descomposiciones de acuerdo al TGA superiores o cercanas a los 100°C.

Tabla 3. Análisis térmico: puntos de fusión y la pérdida de masa en las NFS formadas en comparación con el fármaco puro.

NFS o Fármaco	Punto de Fusión	Pérdida de masa
Sec-Ac. 3,4,5-THBZ	172.19 °C	77.09%
Sec-Ac. 3,5-DHBZ	83.65 °C	5.08/58.73%
Sec-Ac. 3,4-DHBZ	63.68 °C	5.38/94.10%
Sec-Ac. 2,6-DHBZ	131.10 °C	82.23%
Sec-Ac. 2,5-DHBZ	128.31 °C	93.0%
Sec-Ac. 2,4-DHBZ	111.79 °C	95.69%
Sec-Ac. 2,3-DHBZ	91.20 °C	2.56%
Sec-Ac. 4-HBZ	51.86 °C	93.75%
Sec-Ac. 3-HBZ	54.80 °C	93.84%
Secnidazol	73.78 °C	93.84%

Estudios de Estabilidad de las NFS de secnidazol. Como parte de la caracterización también se realizaron estudios de estabilidad física indicativa, estos estudios se realizaron para determinar la estabilidad física y química de las NFS bajo ciertas condiciones de temperatura y humedad. Para estos estudios las NFS se expusieron por treinta días a diferentes condiciones de almacenamiento pero manteniendo constante la temperatura y la humedad relativa (HR). Las condiciones de almacenamiento fueron: 40 °C con 75% de humedad relativa, 40 °C con 0% de humedad relativa y 50 °C con 0% de humedad relativa. Después de este periodo de tiempo las muestras se examinaron por difracción de rayos X de polvos y se compararon con los patrones de difracción de la NFS antes del estudio. El análisis de los estudios de estabilidad física indicativa de las NFS bajo condiciones de temperatura controlado y de HR indica que no hay cambio de fase sólida a 40 °C con 0% HR y a 40 °C con 75% de HR, lo que indica la estabilidad de las NFS en estas condiciones de

almacenamiento. Sin embargo a 50 °C con 0% de HR se observan cambios en el patrón de difracción de las NFS de Sec:Ac. 3,4-DHBZ, Sec:3-HBZ y Sec:4-HBZ, lo que indica que en esta condición de temperatura y HR no son estables estas fases. Esta observación es interesante ya que corresponde a lo observado en el estudio por calorimetría de barrido diferencial en donde para el solvato del co-cristal Sec:Ac. 3,4-DHBZ aproximadamente a 60 °C se observa la pérdida de masa de una molécula de agua (desolvatación) con una posterior descomposición y, para las fases co-cristalinas Sec:Ac 4-HBZ y Sec:Ac. 3-HBZ a 5°C1 y 54 °C se observa en el termograma del DSC un punto de fusión con una posterior descomposición. De los estudios es evidente que la mayoría de las NFS permanecen estables en casi todas las condiciones de almacenamiento lo que brinda un potencial uso como fármaco a demás de acuerdo a los estudios de DSC la mayoría de las temperaturas de fusión y descomposición son superiores a la del fármaco puro (tabla 3) lo que sugiere una mayor estabilidad en las NFS obtenidas que en secnidazol libre.

Estudios de estabilidad en medios fisiológicamente relevantes (ácido clorhídrico 1N, pH 1.2; de acetato de sodio, pH 4.5 y de fosfato de sodio, pH 6.8.). Para evaluar la estabilidad de las NFS en diferentes medios fisiológicamente relevantes y que simulan las condiciones de pH estomacales se realizaron pruebas en medios acuosos de ácido clorhídrico a pH 1.2, de acetato de sodio fosfato a pH 4.5 y de fosfato de sodio un pH de 6.8. Para el estudio las NFS se mantuvieron en agitación por 72 hrs en estos medios y se monitorearon a intervalos de 24 hrs; en cada intervalo las muestras se secaron, y se monitorearon por espectroscopía IR en donde cada espectro obtenido se comparó con el espectro de referencia (NFS sin tratar). Para el análisis de los espectros se considera que cualquier cambio en el desplazamiento o en la forma de las bandas de IR genera una fase diferente a la original y por lo tanto se considera no estable. El análisis de resultados indica que las NFS son estables en todos los medios de disolución hasta por 48 horas y la mayoría de las fases, a excepción Sec:Ac. 3-HBZ y Sec:Ac. 4-HBZ, son estables en todos los medios hasta 72 horas. La determinación de la estabilidad e integridad de las NFS en estos medios es relevante ya que los estudios de solubilidad y velocidad de disolución se realizan en los mismos medios además de que son concluyentes determinar su uso potencial como fármaco oral.

Estudios de Velocidad de Disolución de las NFS de secnidazol. La velocidad de disolución es una medida *in vitro* de la biodisponibilidad, por lo que su determinación es esencial para cualquier fármaco. La velocidad de disolución intrínseca es propia de cada sólido e indica la cantidad de soluto que se difunde en un medio por unidad de área en cierto tiempo. Las constantes de disolución obtenidas de cada NFS y de secnidazol en los diferentes medios de disolución se muestran en la Tabla 4, en donde se puede observar que las constantes de disolución de las NFS Sec:Ac. 3,4-DHBZ y Sec:Ac. 3,5-DHBZ muestran una constante de disolución intrínseca mayor que secnidazol en el medio de disolución de HCl (pH 1.2). Cabe resaltar que la fase que contiene al ácido 2,6-DHBZ tiene la constante de velocidad más baja de toda la serie de NFS, para esta NFS se esperaba que la disolución intrínseca fuera mayor a la del secnidazol ya que la NFS formada es una sal de acuerdo con el análisis por difracción de Rayos X de monocristal. Al respecto, varios estudios han demostrado que la formación de una sal es el método más común y efectivo para incrementar la velocidad de disolución y solubilidad, sin embargo, según el análisis realizado en la estructura cristalina por difracción de Rayos X de monocristal (figura 4) muestra la formación de un empaquetamiento más denso entre el fármaco y el coformador, con interacciones electrostáticas y aromáticas fuertes, lo que conduce a un sólido con menor velocidad de disolución intrínseca.

Tabla 4.- Constantes de velocidad de disolución

NFS/ pH	1.2	4.5	6.8
Sec:Ac. 3,4,5-THBZ	2.57	1.5	2.11
Sec:ac.3,5-DHBZ	3.62	2.11	1.83
Sec:ac.3,4-DHBZ	3.28	1.8	1.6
Sec:ac.2,6-DHBZ	0.47	0.7	0.7
Sec:ac.2,5-DHBZ	1.5	1.8	1.0
Sec:ac.2,4-DHBZ	1.5	1.0	0.96
Sec:ac.2,3-DHBZ	1.2	1.5	1.4
Sec:4-HBZ	2.14	2.6	2.0
Sec:3-HBZ	2.6	1.6	2.0
Secnidazol	2.6	2.0	2.0

Estudios de Solubilidad de las NFS secnidazol. El análisis de solubilidad de las NFS en los diferentes medios de disolución (pH 1.2, 4.5 y 6.8) se resumen en la figura 5 en donde se incluyen los gramos de las NFS por litro de disolución acuosa.

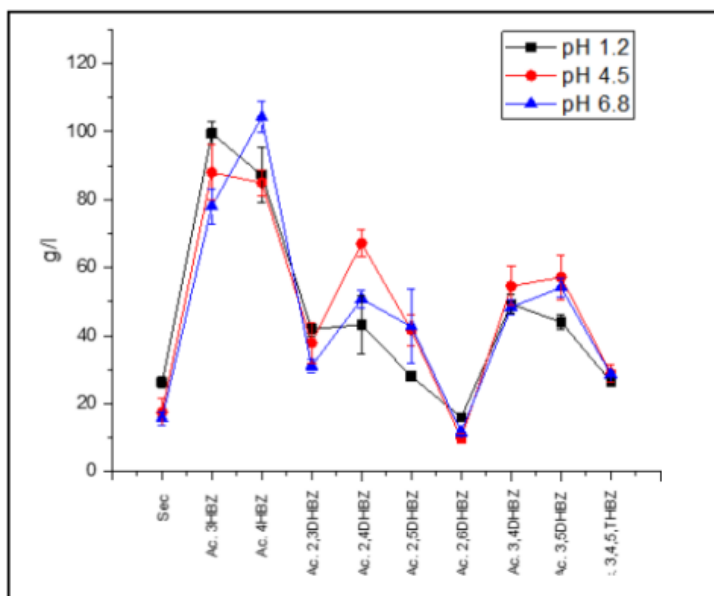


Figura 5.- Solubilidad (gramos disueltos por litro) de las NFS en los diferentes medios de disolución

Los resultados mostrados indican que casi todas las NFS obtenidas tienen una solubilidad mayor a la de secnidazol puro, excepto la fase iónica que contiene al ácido 2,6-DHBZ que tiene una solubilidad menor al IFA puro (Figura 5). La baja solubilidad de la fase salina Sec:Ac 2,6-DHBZ, al igual que en la velocidad de disolución, se explica analizando su empaquetamiento cristalino, en donde además del establecimiento de numerosos puentes de hidrógeno estables, destaca una interacción aromática entre el anillo del 2,6-dihidroxibenzoato con el anillo de imidazolamonio (Figura 4); esta interacción aromática, con carácter electrostático, se genera por la alta densidad electrónica en el anillo del 2,6-dihidroxibenzoato y la deficiente densidad electrónica del anillo de imidazolamonio. En esta interacción el catión imidazolio se posiciona justo por debajo del anillo aromático del coformador lo que dificulta la interacción intermolecular entre las moléculas de agua del medio de disolución y los sitios polares de la NFS lo que genera una disminución de la solubilidad en esta fase. Además, esta fase presenta una alta densidad en la estructura cristalina y un punto de fusión también alto, de lo que se deduce que las interacciones intermoleculares que estabilizan esta estructura son fuertes lo que también impacta en su solubilidad. Por otro lado la fase salina Sec:Ac.

2,3-DHBZ presenta una mayor solubilidad que la fase anterior y superior también al fármaco puro principalmente a pH 1.2. Esta mayor solubilidad es explicada por una mayor disposición de los sitios de interacción polares, incluyendo al catión imidazolio, para interactuar con las moléculas de agua del medio de disolución. En la estructura cristalina de la fase Sec:Ac. 2,3-DHBZ no se observa al catión imidazolio participar directamente en una interacción aromática como en la fase Sec:Ac. 2,6-DHBZ lo que facilita el establecimiento de nuevas interacciones intermoleculares e incrementa su solubilidad.

Para el caso los solvatos de co-cristales (Sec: Ac.3,4-DHBZ y Sec: Ac.3,5-DHBZ) se observa un incremento considerable de la solubilidad en los tres medios de disolución y, para los co-cristales también se observa una mayor solubilidad en todas las NFS con incrementos de hasta tres veces como en las fases Sec:Ac 3-HBZ y Sec: Ac. 4-HBZ. La mayor solubilidad de estas NFS se debe principalmente al diferente empaquetamiento cristalino (figura 3), en donde el grupo imidazol en estas fases está disponible estéricamente para protonarse en un medio ácido o para establecer interacciones polares con las moléculas de agua del medio de disolución, lo que incrementa la solubilidad en comparación con el secnidazol libre que de acuerdo a su estructura cristalina establece interacciones aromáticas en donde el grupo imidazol está menos disponible para protonarse o para interactuar con las moléculas de agua del medio de disolución.

Finalmente, también es importante resaltar que las NFS menos solubles (con los ácidos 2,6-DHBZ y 3,4,5-THBZ) son las que presentan un mayor punto de fusión y una densidad de red cristalina también alta, de lo que se deduce que la baja solubilidad de estas NFS se debe a la alta estabilidad de la estructura cristalina al formar interacciones intermoleculares altamente estables, incluyendo puentes de hidrógeno e interacciones aromáticas. Por otro lado, las NFS más solubles (3-HBZ y 4-HBZ) son las que presentan un menor punto de fusión y una menor densidad de red cristalina, lo que sugiere que la fuerza de interacción para estos sistemas es menor.

CONCLUSIONES

En la búsqueda de NFS de IFAs, en este estudio generaron siete co-cristales y dos sales de secnidazol utilizando como coformadores los derivados de ácidos n-hidroxibenzoicos, específicamente Sec-ac. 3-HBZ, Sec-ac. 4-HBZ, Sec-ac. 2,3-DHBZ, Sec-ac. 2,4-DHBZ, Sec-ac. 2,5-DHBZ, Sec-ac. 2,6-DHBZ, Sec-ac. 3,4-DHBZ y Sec-ac. 3,5-DHBZ y Sec-ac. 3,4,5-THBZ. Dichas NFS son estabilizadas por interacciones intermoleculares de puente de hidrógeno y en algunos casos aromáticas entre el fármaco y el co-formador, como se observaron en las estructuras cristalinas obtenidas de los estudios de la difracción de rayos X de monocristal y; para el caso de las sales formadas entre el IFA y los ácidos 2,3-DHBZ y 2,6-DHBZ hay un desplazamiento del protón ácido del coformador hacia el fármaco (grupo imidazol). La obtención de estas NFS fue factible utilizando estrategias convencionales de síntesis supramolecular en estado sólido como la reacción por slurry, reacción mecanoquímica y reacción de cristalización por evaporación lenta y, la caracterización de estas fases se realizó con técnicas como la difracción de rayos X de polvos y de monocristal, la espectroscopia infrarrojo, el análisis térmico por calorimetría diferencial de barrido y el análisis termogravimétrico que permitieron la elucidación estructural y el análisis de sus propiedades físicas. Por otro lado, los estudios de velocidad de disolución y de solubilidad muestran modificaciones significativas en comparación con el fármaco puro y, se observó una correlación entre la estructura cristalina y las propiedades físicas como el punto de fusión y la solubilidad. Además, las nuevas fases formadas muestran estabilidad en medios acuosos a pH determinados (1.2, 4.5 y 6.8) y en un ambiente de hasta 75% de humedad relativa y 40 °C. Esta consideración es importante dado que el fármaco puro no estable en condiciones de HR alta ni en medios básicos, lo que limita su uso y condiciones de almacenamiento particularmente en países tropicales con alta humedad relativa la mayor parte de año y con temperaturas elevadas. Así para el IFA secnidazol, la formación de NFS ya sean co-cristales, solvatos o sales pueden ser una buena alternativa de uso.

AGRADECIMIENTOS

Al CONACyT y Laboratorios Senosiain S.A. de C.V. por el apoyo financiero otorgado.

BIBLIOGRAFÍA

1. HU, Y., GNIADO, K., ERXLEBEN A. Y MCARDLE, P. CRYST. GROWTH DES., 2014, 14, 803-813..
2. Hofmann, K. *Imidazole and Its Derivatives*. Interscience Publishers, Inc., New.York., 1953. p. 127.

ENSAYO CLINICO ALEATORIO SOBRE EL USO DE PROBIOTICOS EN PACIENTES CON CÁNCER CERVICOUTERINO EN ETAPAS CLINICAS IIB SOMETIDAS A QUIMIOTERAPIA Y RADIOTERAPIA CONCOMITANTE. PATRON TH1, TH2 Y NFKB

Lucely del Carmen Cetina Perez¹ Silvia Quintero Esquivel² Joaquín Manzo Merino¹

¹Instituto Nacional de Cancerología, ²Universidad de Guadalajara.

RESUMEN

El cáncer cervicouterino (CaCu) es una neoplasia maligna la cual se origina en la unión escamocolumnar (zona de transformación) del cuello uterino o cérvix. Representa la segunda causa de cáncer más común en México y la cuarta causa de muerte por cáncer a nivel mundial en mujeres. En México CaCu localmente avanzado representa el 80%. El tratamiento de elección es a base de cisplatino, el cual presenta toxicidad con diversas implicaciones para las pacientes. El daño crónico produce síndrome de mala absorción, obstrucción del intestino delgado, proctitis crónica y la formación de fístulas rectovaginales. Como proyecto de investigación de verano se evaluó a la molécula CD4 ya que esta molécula regula el proceso inflamatorio en cáncer, los niveles de dicha molécula podría estar siendo regulada por el virus del papiloma humano.

INTRODUCCIÓN

El cáncer cervicouterino (CaCu), es un problema de salud pública, que pese a ser un modelo de prevención del cáncer, es la segunda causa de cáncer más común en México y la cuarta causa de muerte en todo el mundo (1-2). El CaCu es actualmente estadificado de acuerdo a los lineamientos de la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia (FIGO)(3). En términos de tratamientos, el CaCu puede dividirse en tres grandes grupos: estadios clínicos (EC) tempranos desde IA1 (enfermedad microinvasiva) hasta el IIA1 (tumores que miden < 4 cm sin invasión parametrial), los cuales usualmente son tratados con procedimientos quirúrgicos logrando supervivencias hasta del 90%; en el CaCu localmente avanzado que puede ser considerado desde estadios clínicos IB2/IIA2 a IVA, la QT-RT es el tratamiento de elección alcanzando supervivencias de 60-80% 4. La modalidad de quimioterapia radioterapia (Qt Rt) concomitante es una nueva modalidad de tratamiento experimentada en los últimos años en los pacientes con cáncer localmente avanzado. La toxicidad de la QtRt concomitante durante y después del tratamiento, es muy importante y poco estudiada. El daño crónico de la radioterapia sobre el intestino se traduce en síndrome de mala absorción, obstrucción del intestino delgado, proctitis crónica y la formación de fístulas rectovaginales que se presentan en 1% a 3%. La más común consiste en úlceras rectales, proctitis y fístula, con un período de latencia de 6 a 18 meses (5-6). La inflamación es una condición compleja asociado con una respuesta inmune que involucra biomoléculas, como citocinas proinflamatorias, componentes de las vías de señalización. El NF-κB ha sido involucrado en múltiples modelos de inflamación, la activación de este factor induce la producción de citocinas pro inflamatorias. Una de las vías de activación se da en respuesta a infecciones virales y microbianas o a exposición a citocinas pro inflamatorias(7). Las células Th1, las cuales requieren interleucina 12 (IL-12) para su diferenciación, característicamente producen IL-2 e interferón-γ (IFN-γ), y facilitan la respuesta de tipo celular al inducir reacciones inflamatorias, y al activar funciones microbicidas en los macrófagos. Las células Th2 requieren IL-4 para su diferenciación, y característicamente producen IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, e IL-13.

Una de las moléculas que regulan el proceso inflamatorio en cáncer es CD4 la cual podría estar siendo regulada por el virus del papiloma humano. Por lo cual evaluamos el efecto de la oncoproteína E6 del VPH sobre los niveles de CD4.

TEORÍA

La modalidad de quimioterapia radioterapia (Qt Rt) concomitante es el tratamiento estándar para estadios clínicos 1b2-IVa. Sin embargo la toxicidad es importante. Así que se pretende generar conocimiento nuevo para el tratamiento de las pacientes con cáncer cervicouterino, y tratar de disminuir la toxicidad del mismo, sin afectar la supervivencia y mejorar la calidad de vida de las pacientes con esta enfermedad que se encuentran en tratamiento y que por ende ya se encuentra

afectada. El proyecto pretende generar evidencia clínica y científica de que los probióticos pueden disminuir la respuesta inflamatoria intestinal en estas pacientes.

PARTE EXPERIMENTAL

CULTIVOS CELULARES

Se empleó la línea celular HaCaT (queratinocitos inmortalizados) como modelo celular de estudio al ser negativo al VPH.

PLÁSMIDOS

Se empleó el plásmido pGWI-VPH18-E6, etiquetado con HA (hema-aglutinina) la cual servio para su identificación.

TRANSFECCIÓN

Para evaluar la expresión de proteínas, se sembraron 380,000 células HaCaT en placas de 60mm, se incubaron durante 24 horas para permitir adherencia y fueron transfectadas con el plásmido pcDNA3, pGWI-VPH18-E6 utilizando el reactivo Polyfectamine (Quiagen) de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

WESTERN BLOT

La expresión de proteínas se analizó utilizando extractos proteicos de células HaCaT transfectadas con el plásmido previamente mencionado. Después de 24 horas, las células fueron cosechadas y se obtuvo un lisado total mediante la adición de buffer de carga de proteínas. Las proteínas fueron cargadas y separadas mediante electroforesis en gel de acrilamida desnaturalizante (SDS-PAGE). Las proteínas separadas fueron transferidas a una membrana de nitrocelulosa. Posteriormente la membrana fue incubada con los anticuerpos primarios anti-HA, seguido de una incubación con anticuerpos secundarios anti-ratón, acoplados a peroxidasa de rábano (HRP) y finalmente se reveló la presencia de las proteínas mediante autorradiografía usando el reactivo ECL (Amersham). Se analizaron los niveles de la proteína gliceraldehído 3 fosfato deshidrogenasa (GAPDH) como control de carga.

RESULTADOS

Se observó el efecto de la oncoproteína E6 del virus del papiloma humano sobre la molécula CD4, los niveles de dicha molécula disminuyeron en presencia de la oncoproteína E6 del VPH18. Figura 1.

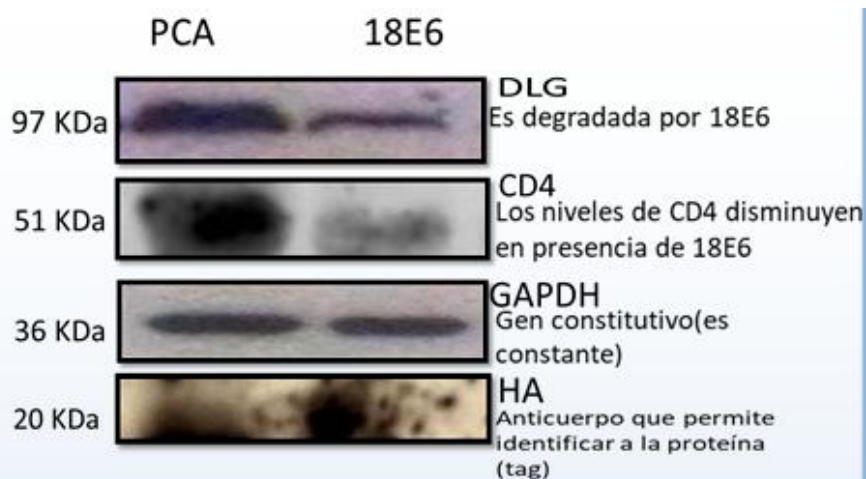
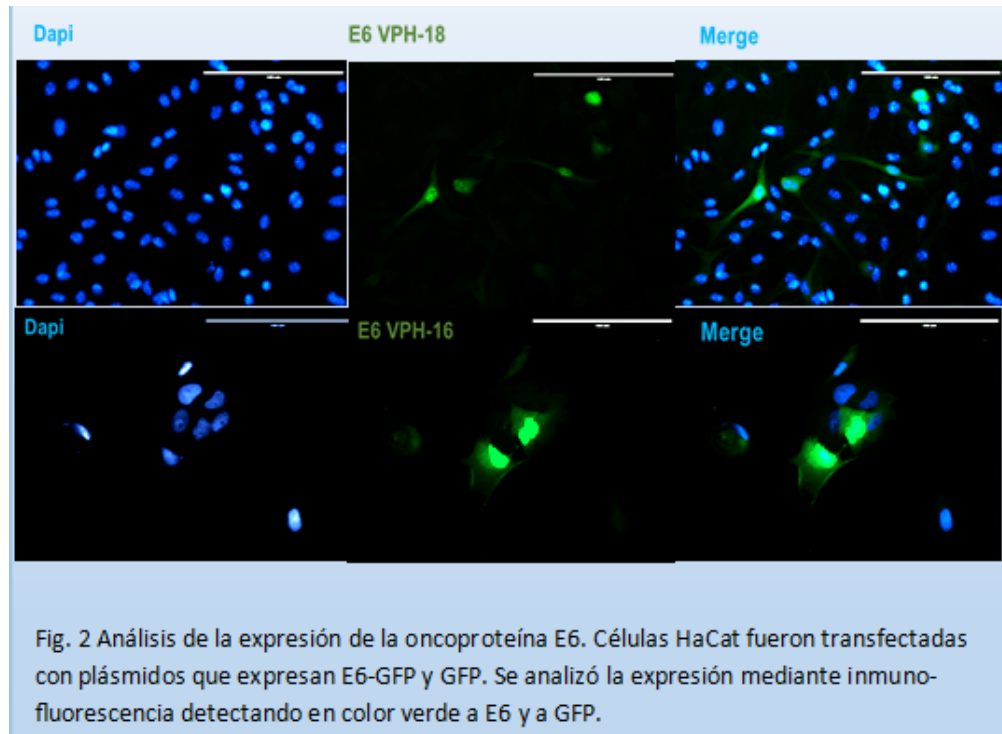


Fig. 1 Efecto de la oncoproteína E6 del VPH sobre la molécula de CD4

Se analizó la expresión de la oncoproteína E6 del VPH18 mediante inmunofluorescencia.



CONCLUSIONES

La expresión de la molécula CD4 disminuye en presencia de la oncoproteína E6 del VPH18.

BIBLIOGRAFÍA

1. Siegel R, Jiemin Ma, Zou Zhaochui, Jemal A (2014). Cancer statistics 2014. *CA Cancer J Clin.*, 64:9-29.
2. International Agency for Research on Cancer. Globocan 2012. Disponible en <http://globocan.iarc.fr/>. (Fecha de consulta, Julio 20, 2017)
3. Pecorelli S, Zigliani L, Odicino F. (2009). Revised FIGO staging for carcinoma of the cervix. *Int J Gynaecol Obstet.*, 105:107-108.
4. Dueñas González A, Cetina L, Coronel J. (2010). Pharmacotherapy options for locally advanced and advanced cervical cancer. *Drugs.* 70:403-432.
5. Bonford c, kuckler ih, sheriff sb. (1993). Cervix, body of uterus, ovary, vagina, vulva, gestational trophoblastic tumours. in bombford ck, kunkler ih, sheriff sb (eds.), walter and miller's textbook of radiotherapy. fifth ed. churchill livingstone: new York, 401-422
6. Eifel pj, Levenback c, Wharton jt, Oswqld mj. (1995) time course and incidence of late complications in patients treated with radiation therapy for figo stage ib carcinoma de uterine cervix. *int j rat bioL PHYS.*, 32;1289- 1300.
7. Escárcega RO, Fuentes-Alexandro S, GarcíaCarrasco M, Gatica A, Zamora A. (2007). The transcription factor nuclear factor kappa B and cancer. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*19(2):154-

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL ACEITE ESENCIAL DE *CITRUS PARADISI* SOBRE CEPAS DE *CANDIDA ALBICANS* AISLADAS DE PACIENTES PEDIÁTRICOS.

Ameyalli Jocelyn Martínez Delgado¹, Juan Gabriel Báez González², Sonia Martha López Villarreal¹, Rene Hernández Delgado¹, Abelardo Chávez Montes², Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis¹

Universidad Autónoma de Nuevo León,

¹Facultad de Odontología, ²Facultad de Ciencias Biológicas.

RESUMEN

Introducción: *Citrus paradisi* es una planta eucariota que pertenece a la familia *Rutaceae*, la cascara contiene principales compuestos como terpenos, sesquiterpenos, hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, ésteres y óxidos, proporcionando efectos inhibitorios ante *Candida albicans*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudococcus sp*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* y *Aspergillus niger*. *C. Albicans* es un patógeno oportunista asociado con candidiasis, liquen plano oral, vitíligo e inclusive caries dental en niños. **Objetivo:** Evaluar la actividad antifúngica del aceite esencial de *Citrus paradisi* sobre cepas de *Candida albicans* aislados de pacientes pediátricos. **Metodología:** Se obtuvo el aceite de *Citrus paradisi* por hidrodestilación, se colocó la cáscara en el matraz y se puso a reflujo continuo por ocho a diez horas obteniéndose el aceite y colocándose en un tubo ámbar en refrigeración, se realizaron las pruebas fitoquímicas para evaluar la presencia de los principios activos, posteriormente se desarrolló la emulsión estable incorporando el aceite esencial en concentración de 20 µl/ml con globulos de tamaño y distribución aceptable para ser evaluada su actividad antifúngica mediante metodo de difusión en agar dextrosa sabouraud contra cepas de *C. albicans* y *C. krusei*. **Resultados:** Los estudios antifúngicos revelaron efecto inhibitorio diferenciales contra diferentes cepas de *C. albicans*. Se observaron zonas de inhibición que varían de 13 a 18 mm. **Conclusiones:** Los resultados de este estudio sugieren que el aceite esencial brinda funciones antifúngicas beneficiosas que pueden utilizarse para controlar el crecimiento microbiano no deseado en los niños.

PALABRAS CLAVE: *Citrus paradisi*, *Candida albicans*, actividad antifúngica, emulsión.

INTRODUCCIÓN

La cavidad oral es considerada como un ecosistema, ya que permite el desarrollo y crecimiento de una amplia gama de microorganismos que favorecen sus condiciones debido a la temperatura y humedad de la cavidad oral (Rodríguez *et al*, 2014). Existen más de 500 especies de microorganismos reconocidos como habitantes normales de la cavidad oral en humanos (Almansa Ruiz *et al*, 2016). La incidencia de infecciones fúngicas ha aumentado en las últimas décadas, en la primera infancia, los niños son más susceptibles a la colonización microbiana oportunista en la cavidad oral debido al sistema inmune inmaduro y microflora no completamente establecida (Thomas *et al*, 2016). *Candida albicans* es una de las especies de hongos que causa enfermedades en humanos, es dimorfo y crece como levadura a 30°C y como una forma filamentosa o hifal a 37°C (Kashem *et al*, 2015), tiene un alto potencial acidogénico y cariogénico, es miembro de la microbiota sana del tracto gastrointestinal, tracto reproductivo, cavidad oral y piel (Nobile y Johnson, 2015, Hertel *et al*, 2016; Fragkou *et al*, 2016); posee factores de virulencia como hemolisina, coagulasa, formación de biopel, fosfolipasa, cambio fenotípico, hidrofobicidad superficial, adherencia a las células epiteliales vaginales y proteinasa (Udayalaxmi y Shenoy, 2016). Este principal patógeno de levadura fue identificado en el siglo XIX, a principios de 1900, se encontró en la cavidad oral en niños con 2-6 semanas de edad y en niños de 1 a 6 años. Entre las especies adicionales aisladas de infecciones clínicas se incluyen, *C. glabrata*, *C. guillierimondii*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis*, *C. pseudotropicalis*, *C. stellatoidea* y *C. tropicalis* (Barnett, 2008; Patil *et al*, 2015).

En la cavidad oral se encuentra en la saliva, la placa dental y la dentina infectada de los niños con caries temprana de la infancia (De Carvalho FG, Parisotto 2007, Moalic *et al*, 2001) y es responsable de enfermedades como candidiasis oral y caries en niños. En la primera enfermedad, este patógeno se presenta en mas del 50% de los casos en niños (García Cuesta *et al* 2014; Patil *et al*, 2015), el tratamiento de elección consiste en una combinación de un agente antifúngico tópico o sistémico (nistatina), sin embargo, el uso de agentes antifúngicos convencionales puede desencadenar la aparición de factores indeseables, como la aparición de reacciones adversas y un aumento de la

resistencia a los hongos debido a su uso prolongado (Dias *et al*, 2017). La caries temprana de la infancia se relaciona también a *C. albicans* (Kalfas, 2016), las restauraciones dentales y el uso del barniz de flúor se han utilizado para tratamiento y prevención de esta enfermedad, sin embargo se requiere equipo sofisticado y los costos de los materiales son muy elevados (Duangthip *et al*, 2015). Las plantas, gracias a su maravilloso y complejo metabolismo, constituyen un verdadero arsenal químico. En la época del renacimiento, Paracelso, padre de la Farmacología Química, fue el primero en señalar que las propiedades medicinales de las plantas radican en sus principios activos aislables por técnicas alquímicas. La fitoterapia se define como el uso de plantas o extractos de plantas para usos medicinales. Su aceptación es debida a que los productos naturales no son tóxicos, tienen menos efectos secundarios y son fáciles de conseguir (Woong Kim, 2012; Churata Oroya *et al*, 2016). *Citrus paradisi* es una planta eucariota que pertenece a la familia *Rutaceae*, la cascara contiene principales compuestos como terpenos, sesquiterpenos, hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, ésteres y óxidos, proporcionando efectos inhibitorios ante *Candida albicans*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella neumonie*, *Pseudococcus sp*, *Salmonella thyphimurium*, *Staphylococcus aureus* y *Aspergillus niger* (Vasek *et al*, 2015).

Los aceites esenciales son biológicamente activos como antimicrobianos y antioxidantes, son mezclas de aproximadamente 100 componentes, los cuales dependen de la variedad de fruta y del método de extracción empleado (Din *et al*, 2015; Soto *et al*, 2013). Este estudio tiene como objetivo evaluar la actividad antifúngica del aceite esencial de *Citrus paradisi* sobre cepas de *Candida albicans* aislados de pacientes pediátricos.

PARTE EXPERIMENTAL

Preparación del aceite esencial

Se recolectaron los frutos de toronja maduros y en buenas condiciones. Para la obtención del aceite esencial de toronja, se retiró la cascara de la toronja, resultado 25 kg de corteza y se sometieron a un proceso de hidrodestilación, se colocó la cáscara en el matraz y se puso a reflujo continuo por 8-10 horas, se obtuvieron 53 ml de aceite, el cual se depositó en un frasco de vidrio de color ámbar bajo refrigeración.

Microorganismos utilizados

Los microorganismos que se emplearon en los ensayos las cepas *C. albicans* y *C. krusei* las cuales fueron aisladas de pacientes pediátricos.

Medios de cultivo

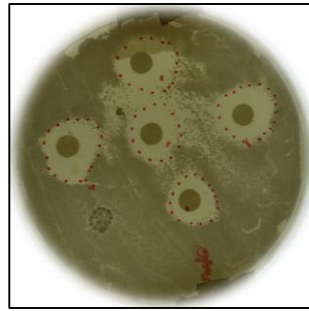
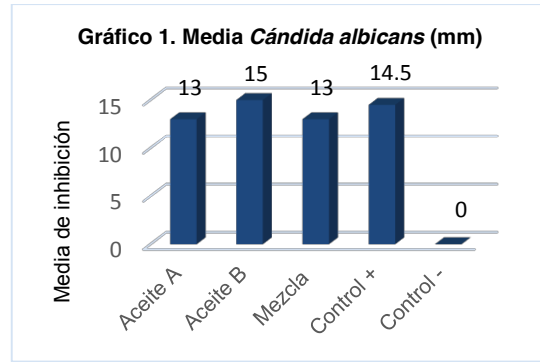
Las cepas de *C. albicans* fueron cultivadas en agar dextrosa Saboraud e incubadas en condiciones de aerobiosis a 37 °C por 48 horas.

Método Kirby-Bauer

Una alícuota se sembró en agar dextrosa Saboraud, posteriormente se tomaron 2 a 3 colonias para inocularlas en caldo y tener un inóculo ajustado hasta llegar a una concentración equivalente al grado de turbidez de 2 según la escala de MacFarland (donde el número de microorganismos es de 0.6 x10⁹/ml.). Se tomaron 100µl del hongo y se sembraron en cada caja petri conlaas cuales fueron previamente etiquetadas, se realizó la siembra por diseminación y se dejó de 3-5 minutos para su secado. Luego se embebieron los discos de papel filtro estériles (Whatman No. 42) con 20µl del aceite esencial realizándose por triplicado y se colocaron sobre las superficies de cada agar. Como control positivo se usó clorhexidina 0.12% y como control negativo Etanol. Las cajas se incubaron invertidas a 37°C por 48 horas. Posteriormente, con un vernier se midieron los halos de inhibición y se comparó el efecto con los controles.

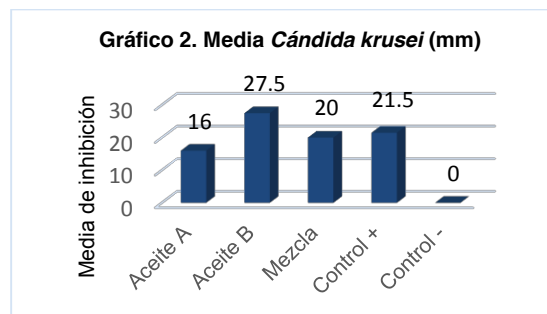
RESULTADOS

El aceite esencial de toronja puro demostró actividad antifúngica sobre las cepas de *Cándida albicans* (Fig. 1), con halos de inhibición promedio desde 13 a 27 mm, comparándose con el control positivo que presentó una inhibición de 14.5 mm, lo cual nos permite valorar el efecto inhibitorio del aceite contra *Cándida albicans* (Gráfico 1).

Fig. 1 *C. albicans*

Fuente: Investigación

Por otro lado, se apreció que el aceite mostró mayor efectividad contra la cepa de *Cándida krusei*, ya que presentó halos de inhibición promedio hasta 27.5 mm, (aceite B), con mayor efectividad que el control positivo empleado (Gráfico2).



Fuente: Investigación

CONCLUSIONES

El aceite esencial de *Citrus paradisi* "toronja" puro, presenta actividad antifúngica sobre cepas clínicas de *Candida albicans*, siendo importante dar continuidad a estudios que permitan determinar la concentración mínima inhibitoria del aceite, así mismo realizar estudios de su toxicidad para su uso en cavidad oral en niños.

BIBLIOGRAFÍA

1. Almansa Ruiz JC, Bosman AM, Steenkamp G. Bacterial profile of necrotic pulps in cheetah (*acinonyx jubatus*) canine teeth. *J Zoo Wildl Med.* 2016;47(1):98-105.
2. association with early childhood caries. *Brazilian J Oral Sci.* 2007;6:1249-53.
3. Barnett JA. A history of research on yeasts 12: medical yeasts part 1, *Candida albicans*. *Yeast.* 2008;25(6):385-417.
4. Churata Oroya DE, Ramos Perfecto D, Moromi Nakata H, Martínez Cadillo E, Castro Luna A, Garcia de la Guarda R. Efecto antifúngico de *Citrus paradisi* "toronja" sobre cepas de *Candida albicans* aisladas de pacientes con estomatitis subprotésica. *Rev Estomatol Herediana.* 2016;26(2):78-84.
5. De Carvalho FG, Parisotto TM. Presence of *Candida* spp. in infants oral cavity and its.

6. Dias IJ, Trajano ERIS, Castro RD, Ferreira GLS, Medeiros HCM, Gomes DQC. Antifungal activity of linalool in cases of *Candida* spp. isolated from individuals with oral candidiasis. *Braz J Biol.* 2017;(AHEAD):0-0.
7. Din MU, Sarfraz RA, Shahid T. Biological Activity-Based Assessment of Essential Oil Emulsions. *J. Food Process. Preserv.* 2015;39(6):1452-1456.
8. Duangthip D, Jiang M, Chu CH, Lo EC. Non-surgical treatment of dentin caries in preschool children—systematic review. *BMC oral health.* 2015;15(1): 44.
9. Fragkou S, Balasouli C, Tsuzukibashi O, Argyropoulou A, Menexes G, Kotsanos N, Kalfas S. (2016). *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* and *Candida albicans* in oral samples from caries-free and caries-active children. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2016;17(5):367-375.
10. fungal ora in 353 students and possible relationship with dental caries. *Caries Res.* 2001;35:149-55.
11. Garcia Cuesta C, Sarrion Pérez MG, Bagán JV. Current treatment of oral candidiasis: A literature review. *J Clin Exp Dent.* 2014;6(5):e576.
12. Hertel M, Schmidt Westhausen AM, Strietzel FP. Local, systemic, demographic, and health-related factors influencing pathogenic yeast spectrum and antifungal drug administration frequency in oral candidiasis: a retrospective study. *Clin Oral Investig.* 2016;20(7):1477-1486.
13. Kashem SW, Igyártó BZ, Gerami Nejad M, Kumamoto Y, Mohammed J, Jarrett E, Iwasaki A. *Candida albicans* morphology and dendritic cell subsets determine T helper cell differentiation. *Immunity.* 2015;42(2):356-366.
14. Moalic E, Gestalin A, Quinio D, Gest PE, Zerilli A, Le Flohic AM. The extent of oral.
15. Nobile CJ, Johnson AD. *Candida albicans* biofilms and human disease. *Annu Rev Microbiol.* 2015;69:71-92.
16. Patil S, Rao RS, Majumdar B, Anil S. Clinical appearance of oral *Candida* infection and therapeutic strategies. *Front Microbiol.* 2015;6:1391.
17. Rodríguez O, Sánchez R, Verde M, Núñez M, Castro R, Chávez A. Obtaining of the essential oil of *syzygium aromaticum*, identification of eugenol and its effect on *streptococcus mutans*. *J Oral Res.* 2014;3(4):218-224.
18. Soto L, de Rodriguez GO, Rojas L, Sulbarán B, Peña J, Berradre M, Fernández V. Caracterización química del aceite esencial de toronja (*Citrus paradisi* L.). *Revista de la Facultad de Agronomía.* 2013;30(2).
19. Thomas A, Mhambrey S, Chokshi K, Chokshi A, Jana S, Thakur S, Bajpai G. Association of oral *Candida albicans* with severe early childhood caries—a pilot study. *JCDR.* 2016;10(8):ZC109.
20. Udayalaxmi J, Shenoy N. Comparison between biofilm production, phospholipase and haemolytic activity of different species of *Candida* isolated from dental caries lesions in children. *JCDR.* 2016;10(4):DC21.
21. Vasek OM, Cáceres LM, Chamorro ER, Velasco GA. Antibacterial activity of *Citrus paradisi* essential oil. *J. Nat. Prod.* 2015;8:16-26.
22. Woong Kim S. Phytotherapy: emerging therapeutic option in urologic disease. *Transl Androl Urol.* 2012;1(3):181-191.

EXTRACTO DE GRANA COCHINILLA (*DACTYLOPIUS COCCUS*) COMO COLORANTE NATURAL PARA PREPARACIONES BACTERIOLÓGICAS

Leticia Flores-Alatorre Hernández, Laura Mariana Peregrina Jiménez, Odalys Pérez Gregorio y Florencia del Carmen Salinas Pérez

Universidad Tecnológica de Tecámac.

floalae@hotmail.com

RESUMEN

Las preparaciones bacteriológicas y los métodos convencionales de tinción, son la base para la identificación bacteriana, dichas tinciones se realizan con colorantes como el azul de metileno, fucsina, verde de malaquita, etc. que resultan tóxicos y muy contaminantes cuando son vertidos a los drenajes, obligando a mantenerlos resguardados, generando acúmulo de residuos tóxicos en los laboratorios y gastos con empresas especializadas que los lleven a su destino final. En este trabajo se sugiere la sustitución de los colorantes químicos por un colorante natural obtenido del extracto acuoso de la grana cochinilla (*Dactylopius coccus*). Se elaboraron diferentes concentraciones de extracto y se probaron con diferentes métodos de tinción con frotis convencionales de cepas de bacterias Gram + y Gram - demostrando su poder tintóreo. Se comprobó que el extracto de grana cochinilla logra un teñido adecuado de las preparaciones bacteriológicas y por ser un colorante natural, no resulta tóxico para los seres vivos, lo que permite desecharlo en el drenaje convencional sin tener que almacenarlo, no generando gastos para su disposición final.

INTRODUCCIÓN

La grana cochinilla (GC) (*Dactylopius coccus*) es un insecto parásito del nopal, en especial de ejemplares de los géneros *Opuntia* y *Nopalea* (Portillo y Vigueras 2006); La GC produce ácido carmínico (AC), un colorante natural que, por su inocuidad, no necesita certificación de la FDA (Food and Drug Administration) para su uso en la industria alimentaria, cosmética o farmacéutica y además se utiliza en la industria textil (Flores-Alatorre, 2014). El uso de la GC se conoce en México desde la época prehispánica, pero luego de la invención de los colorantes artificiales, cayó en desuso quedando sólo como elemento artesanal. Actualmente ha retomado importancia por no dañar al consumidor e inclusive se le atribuyen beneficios medicinales como antioxidante, antibiótico, antiviral y antitumoral.

El AC y su derivado metálico, llamado carmín, están clasificados como pigmentos quinoides por su composición química; también se han estudiado sus características fisicoquímicas, actualmente se sabe que el color varía según el pH de la solución donde se encuentra el AC, dando tonos desde el amarillo, pasando por naranja, rojo intenso, violeta y morado, además, dependiendo el metal con el que se combine, puede dar colores más intensos y estables (Monroy, 2007).

En cuanto a su uso, actualmente se adiciona a los alimentos brindando color, cabe mencionar que en especial en la industria alimentaria, ha retomado importancia debido a la prohibición de los colorantes artificiales por las consecuencias graves ya demostradas de su consumo, y siendo el AC un colorante natural, no tiene ninguna consecuencia, ni por ingestión ni por contacto, ni se ha reportado ningún efecto teratogénico o genotóxico. En los fármacos, el AC se usa como parte del vehículo en comprimidos, grageas y jarabes, en los cosméticos su uso es para dar tonos rojos a labiales, maquillajes y sombras, así como color en cremas y jabones.

En el área químico-biológica, el uso del AC es muy importante debido a su capacidad tintórea en cortes histológicos, indicador de pH, adherencia a proteínas, etc. Y por su origen natural no es tóxico para quien lo utiliza, a diferencia de todos los demás colorantes artificiales que son tóxicos y llegan a tener efectos nocivos en la salud del técnico, además de que su disposición final se vuelve problemática para los laboratorios que los utilizan, debido las restricciones impuestas por las normas de ecología y medio ambiente en diferentes países, incluyendo México, ya que las aguas residuales con colorantes que son vertidas a ríos y mares pueden afectar los sistemas biológicos. (<http://www.cucei.udg.mx/es/noticia/contaminacion-de-agua-por-colorantes-y-propuesta-de-remediacion>).

Actualmente se están buscando elementos tintóreos de preparaciones histológicas y bacteriológicas que no representen una fuente de contaminación para las aguas residuales, entre ellos, los colorantes naturales, y en especial el ácido carmínico, representa una opción adecuada.

PARTE EXPERIMENTAL

Preparación del colorante.

Para preparar el extracto acuoso de grana cochinilla (egc), se consiguió grana cochinilla (gc) seca del módulo de producción de grana cochinilla de la universidad tecnológica de tecámec, se procedió a moler en mortero cerámico, se preparó un extracto acuoso al 5% en agua destilada, homogenizando con agitador magnético a 90°C durante 15 minutos, posteriormente se centrifugó a 5000 rpm durante 15 minutos y se filtró con papel whatman grado 1. Para tener las diferentes concentraciones, para el caso del extracto al 1%, se diluyó en agua destilada, para los casos de las concentraciones de 10 y 20% se llevó a rotavapor para llegar a la concentración referida. Finalmente, todas las concentraciones se esterilizaron en calor húmedo y se dejaron en refrigeración en frascos ámbar sellados hasta su uso.

Cepas bacterianas.

Se propagaron cepas bacterianas que se encuentran a resguardo en el laboratorio de bioseguridad de la División de Biotecnología de la Universidad Tecnológica de Tecámec, éstas fueron de géneros Gram + (*Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*) y Gram – (*Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*) en medios de cultivo generales (Agar nutritivo y caldo BHI).

Métodos de tinción.

Para evaluar la capacidad tintórea de los EGC, se realizaron frotis convencionales de las cepas bacterianas mencionadas, a dos preparaciones de cada cepa se les tiñó con las diferentes concentraciones del colorante, generando las tinciones simples. Para determinar la posible sustitución del colorante de contraste en la tinción Gram, se utilizaron cepas de *E coli* y *Salmonella typhimurium*, donde la safranina fue sustituida por las diferentes concentraciones de EGC. Todos los frotis teñidos se observaron en un microscopio compuesto equipado con cámara para la toma de fotografías, utilizando el objetivo de inmersión. Como grupo control se tuvieron frotis bacterianos de cada cepa teñidos de forma convencional, para tinción simple con cristal violeta y para tinción Gram, como marca la metodología convencional.

RESULTADOS

Los extractos al 1 y al 5% no presentaron una capacidad tintórea adecuada, por lo que se dejó de utilizar y se quedó el estudio con los extractos de 10 y 20%, que en ambos casos, como podemos observar en las fotografías, sí logró adherirse a las estructuras bacterianas y permitió su visualización microscópica.

En el caso de tinción simple, podemos apreciar en la Figura 1, que el EGC al 20% es capaz de teñir la preparación bacteriana, permitiendo observar la forma (cocos) y la agrupación (estafilococo), de la misma manera que se observa con el colorante convencional.

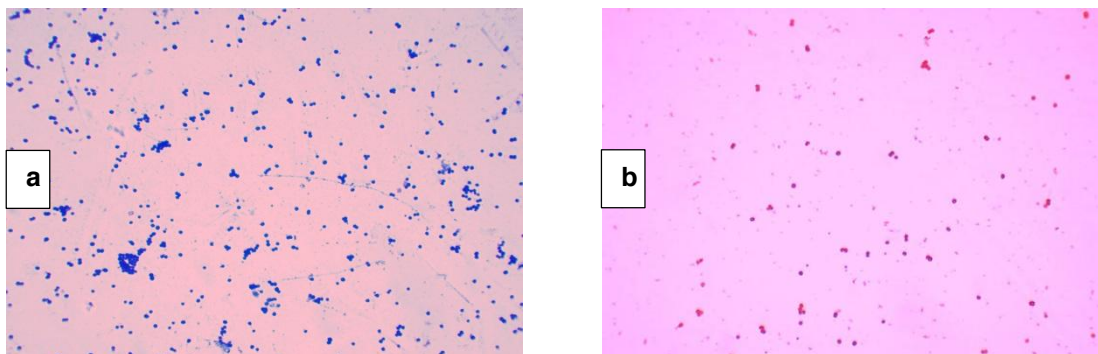


Figura 1. Tinción simple de una cepa de *Staphylococcus aureus* a) Cristal violeta, b) Extracto de grana cochinilla 20%. Aumento 100X. Fuente: Peregrina J. 2017.

Para evaluar la capacidad tintórea del extracto de grana cochinilla al 10 y al 20% en sustitución del colorante de contraste convencional (safranina o fucsina) durante una tinción Gram tradicional, podemos observar que si puede ser sustituido, ya que como se observa en la Figura 2, las bacterias Gram – se aprecian de igual manera en la tinción tradicional que en el caso donde el colorante de contraste fue sustituido por el EGC al 10 y al 20% (Tinción Gram sustituido).

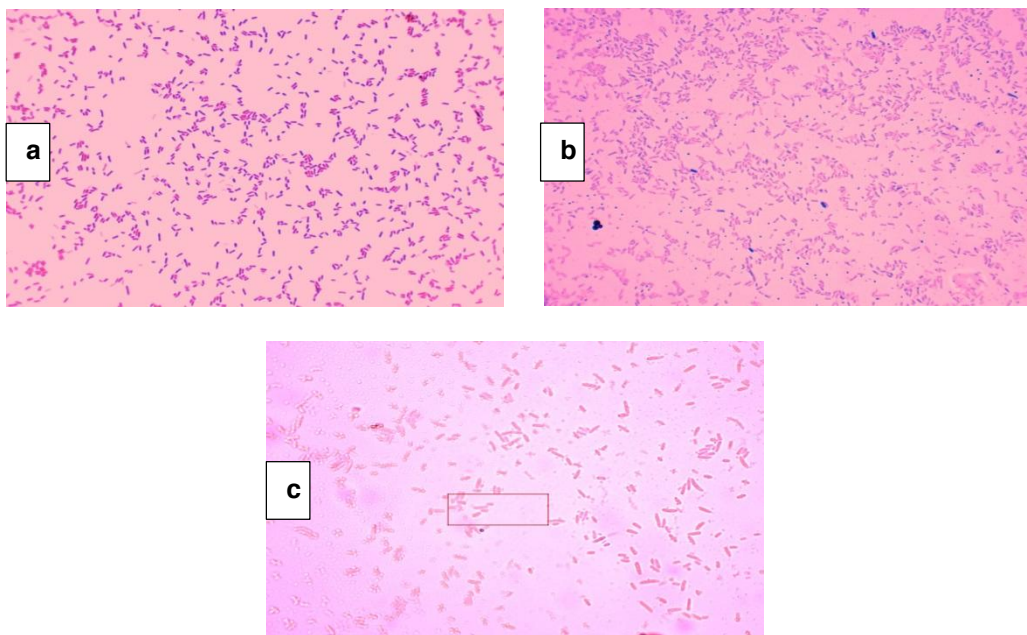


Figura 2. Tinción gram de una cepa de *escherichia coli*. A) tinción gram tradicional b) tinción gram sustituido con extracto de grana cochinilla al 10% y c) tinción gram sustituido con extracto de grana cochinilla al 20%. Aumento 100x. Fuente: peregrina j. 2017.

CONCLUSIONES

Los colorantes convencionales para preparaciones histológicas y bacteriológicas, son de origen sintético, resultando ser muy tóxicos para el que los utiliza y contaminantes al medio ambiente, en cambio, el extracto de grana cochinilla es un sustituto natural de dichos colorantes, que además de permitir la visualización de los frotis, no causa ningún daño al usuario ni tampoco causa contaminación ambiental cuando los residuos son desechados en los drenajes, evitando así el gasto de almacenamiento y disposición química de los mismos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Flores-Alatorre H. L., Abrego R. V. H., Reyes-Esparza J.A., Angeles A. E. y Alba-Hurtado F. (2014). J. Econ. Entomol. 107(4):1700-1705.
2. Monroy M. A. (2007) Extracción del colorante rojo de la cochinilla (*Dactylopius coccus*): Efecto del pH y la temperatura. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, México.
3. Portillo L. y Viguera A. L. (2006). A review on the cochineal species in Mexico, hosts and natural enemies. Acta Hort. 728: 249-255.
4. <http://www.cucei.udg.mx/es/noticia/contaminacion-de-agua-por-colorantes-y-propuesta-de-remediacion>. Consultada 27 Abril 2018

TILLANDSIA RECURVATA, UNA EPIFITA VASCULAR O UN PROBLEMA DE SALUD FORESTAL

Lilia García Azpeitia¹, Sofía Loza Cornejo² y Xóchitl Aparicio Fernández³

¹ Instituto Tecnológico J. Mario Molina Pasquel y Henríquez Unidad Lagos de Moreno, ² Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara, ³Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de los Lagos. itslm2014@outlook.com

RESUMEN

Las epifitas son plantas que viven sobre otras sin ser parasitarias, *Tillandsia recurvata* (“heno motita”) es una epifita de la familia Bromeliáceas con más 500 especies en el continente Americano. Esta epifita se alimenta a través de las hojas que están cubiertas de tricomas para coleccionar agua y nutrientes del ambiente, su sistema radicular es externo y muy primitivo (rizoides) adaptado solo para anclarse o sostenerse del hospedero. Estos rizoides segregan hidrogenoperoxido que actúan como un inhibidor o antibiótico alelopático provocando la muerte de yemas y la abscisión del follaje causando muerte de las ramas del hospedero. El objetivo fue realizar el estudio de un rodal (bosque silvestre) con una superficie total de 9773.7 m² y árboles de hasta 80 años de edad ubicado dentro Unidad Académica de Lagos de Moreno para implementar las medidas necesarias para su preservación.

El rodal constituido en un 60% por mezquite (*Prosopis laevigata*) y un 40% por huizache (*Acacia farnesiana*), fue afectado en el 2016 por la epifita *Tillandsia recurvata*, ocasionando el daño del 100% de los árboles de ambas especies con el posible bloqueo del intercambio de gases provocando la asfixia de las ramas, afectando las funciones fisiológicas básicas como la fotosíntesis y en consecuencia la muerte de algunos ejemplares. Lo que coincidió con lo reportado por la Comisión Nacional Forestal, quienes consideran a *Tillandsia recurvata* como un problema de salud forestal afectando árboles de diversos ecosistemas. En 2017 se afectó la producción de inflorescencias, la producción de fruto fue nula, lográndose solo algunos racimos por árbol, pero con deficiencias en la formación de semillas, tamaño y forma de las vainas, así como la maduración de las mismas.

Se realizó la gestión para iniciar con el tratamiento de los árboles de *Prosopis* como medida inicial del saneamiento y preservación del rodal.

INTRODUCCIÓN

El experimento se realizó utilizando el bosque natural localizado dentro de las instalaciones del Instituto Tecnológico José Mario Molina Pasquel y Henríquez con presencia de mezquite (*Prosopis laevigata*). El campo está localizado a 21°18'57.4"N y 101°54'36.2"W, en Libramiento Tecnológico No. 5000 Colonia Portugalejo de Los Romanes.

La Unidad Académica tiene 18 años que inicio labores de educación superior, sin embargo se construyó en terrenos con un bosque natural correspondiente a un ecosistema xerófilo. El rodal se dividió en unidades experimentales con la misma superficie (m²) (figura 1). En este municipio predomina la vegetación tipo estepario, donde se destacan principalmente especies como mezquite (*Prosopis laevigata*), huizache (*Acacia farnesiana*) y matorral bajo espinoso; corresponde a roca sedimentaria con arenisca conglomerado (INEGI, 2017).

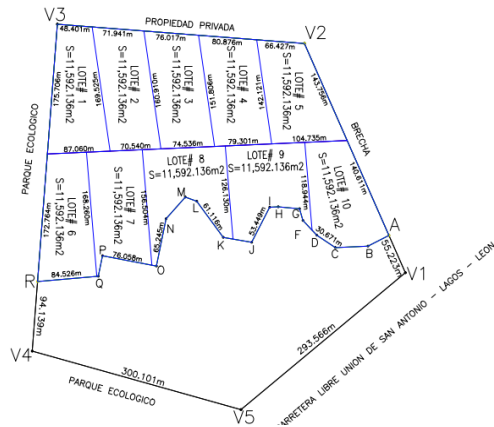


Figura 1. Unidades experimentales del bosque.



Figura 2. Afectación de árboles por *Tillandsia recurvata*.

En 16 años el bosque no tuvo un manejo específico, se permitía la entrada de ganado vacuno de los pobladores cercanos, estos vecinos tenían la libertad de coleccionar leña para su uso personal, sin embargo también cortaban ramas de árboles jóvenes y maduros, el ganado compactaba el suelo y no permitía el crecimiento de herbajes pero tampoco de árboles y arbustos. Los ejemplares de mezquite presentaban la presencia de una epífita (*Tillandsia recurvata*). En 2016 la epífita afectó a las especies arbóreas convirtiéndose en un problema para el desarrollo y crecimiento de la población (figura 2016).

Fue entonces que se evidenció la necesidad de evaluar el estado del bosque y de establecer los procedimientos necesarios para el saneamiento y preservación del bosque.

TEORÍA

De acuerdo a la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO), los bosques son tierras que se extienden por más de 0.5 hectáreas dotadas de árboles de una altura superior a 5 metros y una cubierta de dosel superior al 10%.

En el Municipio de Lagos de Moreno destaca el ecosistema Xerófilo en el que se destacan principalmente especies como mezquite (*Prosopis laevigata*), huizache (*Acacia farnesiana*) y matorral bajo espinoso. Este provee como servicios ambientales la regulación de nutrientes, polinización, control biológico, hábitat, refugio y criadero de especies endémicas, producción de alimentos. Y dentro de sus impactos y amenazas, unas de las causas de deterioro son el pastoreo descontrolado y el desmonte para agricultura y ganadería. Ocasionando pérdida de vegetación a causa de la compactación y erosión del suelo; así como la extracción de especies maderables y explotación descontrolada de plantas (CONABIO, 2017).

En el país este tipo de ecosistema abarca el 19% de la cubierta vegetal del país y en 25 años se ha perdido el 9.5% de este ecosistema de 1985-2010 (CONAFOR, 2016).

El mezquite corresponde taxonómicamente al orden "Fabales", familia "Fabaceae", género "Prosopis L."; son 44 especies la mayoría de ellas están presentes en el continente Americano: Norteamérica y Sudamérica (Argentina-Paraguay-Chile). En México existen más de 3.5 millones de hectáreas e incluye 9 especies autóctonas. De acuerdo a la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza *Prosopis laevigata*, no está catalogada como de riesgo bajo en su estado de conservación, sin embargo la deforestación y tala inmoderada ha disminuido sus poblaciones, (UICN, 2017).

De acuerdo al Consejo Nacional Forestal, los bosques de mezquite destinados a producción de forraje debe ser de 400 árboles/ha, con una distancia de 5 x 5m entre ejemplares. Si el bosque está destinado a la producción de semilla mejorada la población debe ser de 100 árboles /ha, con una distancia de 10 x 10m entre ejemplar y ejemplar.

Por otra parte la epífita *Tillandsia recurvata* es una planta que taxonómicamente pertenece al “Orden: Bromeliales”, “Familia: Bromeliaceae” y “Género: *Tillandsia*”; cuenta con más de 500 especies distribuidas en todo el continente Americano. Esta epífita teóricamente solo vive en su hospedero tomándolo como soporte y por medio de sus rizoides absorbe del medio ambiente el agua y los nutrientes que necesita para vivir. Sin embargo de acuerdo a algunos estudios, recientemente la afectación por esta epífita constituye un problema de salud forestal en México (Flores, 2011).

PARTE EXPERIMENTAL

Se muestrearon subunidades de las unidades experimentales, con una superficie de 10 x 100 m, en localización horizontal en cada unidad.

Se contaron los arboles de las subunidades, y se evaluó cualitativamente la salud de cada árbol, incluyendo la presencia de *Tillandsia recurvata*, bajo los lineamientos del Consejo Nacional Forestal para evaluación de especies forestales.

Posteriormente se tomaron al azar tres arboles de cada unidad experimental y se evaluaron cualitativamente tres ramas de la cada árbol para calificar la presencia de la epífita (figura 3).



Figura 3. Evaluación de ramas de *Prosopis* epífita.

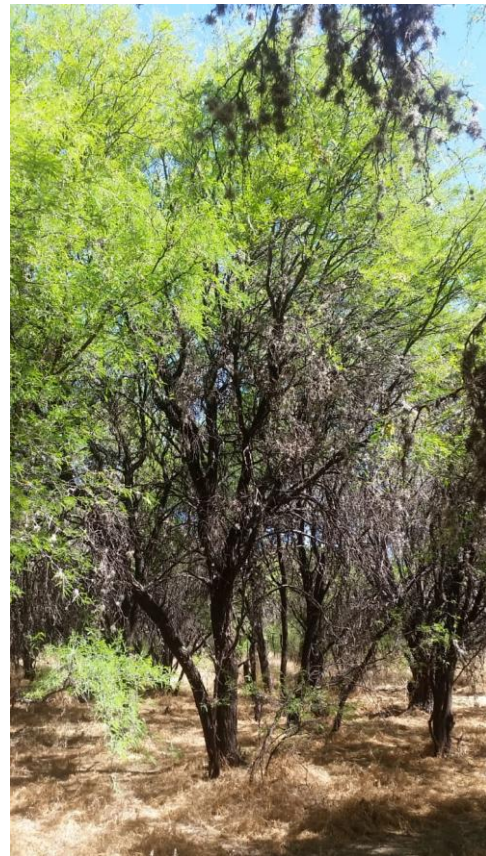


Figura 4. Afectación de mezquite por la *laevigata*.

RESULTADOS

El muestreo arroja que aproximadamente el rodal está constituido por 3900 árboles en las casi diez hectáreas, cada unidad experimental está formada en promedio por 290 mezquites, 100 huizaches, con la presencia de ejemplares del género “*Opuntia*”; si se considera solo las especies arbóreas estaría formado en promedio en un 60% por mezquite (*prosopis laevigata*) y un 40% por huizache (*Acacia farnesiana*).

Como se mencionó anteriormente este bosque natural fue afectado en el 2016 por la epífita *Tillandsia recurvata*, ocasionando el daño del 100% de los árboles de ambas especies con el posible bloqueo del intercambio de gases provocando la asfixia de las ramas, afectando las funciones fisiológicas básicas como la fotosíntesis y en consecuencia la muerte de algunos ejemplares. Lo que coincidió con lo reportado por la Comisión Nacional Forestal, quienes consideran a *Tillandsia recurvata* como un problema de salud forestal afectando árboles de diversos ecosistemas. En 2017 se afectó la producción de inflorescencias, la producción de fruto fue nula, lográndose solo algunos racimos por árbol, pero con deficiencias en la formación de semillas, tamaño y forma de las vainas, así como la maduración de las mismas. No se pudo realizar un muestreo estadístico por la falta de vainas y la afectación de los árboles por dicha epífita.

Se hizo evidente la urgencia de establecer un majo sustentable del bosque natural. Por lo que se pidió la asesoría de CONAFOR para que llevara a cabo una evaluación en campo, validando los resultados obtenidos previamente y otorgara las indicaciones necesarias para el manejo y saneamiento del bosque, dentro de un manejo sustentable.

CONCLUSIONES

Se realizó la gestión para iniciar con el tratamiento de los árboles de *prosopis* como medida inicial del saneamiento y preservación del rodal.

Se estableció el procedimiento para realizar las acciones técnicas para el aclareo, manejo y mantenimiento del bosque de mezquite. Siendo muy importante señalar que no solo se consideró el rodal de mezquite, sino un ecosistema en el que están como especies principales: *Prosopis laevigata*, *Acacia farnesiana*; interactuando factores bióticos (la epífita) y factores abióticos.

BIBLIOGRAFÍA

1. CONABIO. Consejo Nacional para la Biodiversidad. Tipos de ecosistemas en el país. 2017. <https://www.gob.mx/conabio#acciones>
2. CONAFOR. SIRE paquetes Tecnológicos. Comisión Nacional Forestal. SIRE: CONABIO-PRONAR. 2017.
3. Ramírez-Delgadillo, M. Metodología para realizar y presentar los informes de sobrevivencia inicial (ISI) de las plantaciones forestales comerciales (aspectos técnicos). Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). 2011. Coordinación General de Producción y Productividad.
4. Flores-Flores, J.D.; Torres-Espinoza, M.; Nájera-Castro, J.A. Situación del heno motita (*Tillandsia recurvata*), en el estado de Coahuila. Memorias del XV Simposio Nacional de Parasitología Forestal. Colegio de Posgraduados. 2011. pp 175-179.
5. INIFAP. Red de estaciones del Instituto Nacional de Investigaciones Forestal, Agrícola y Pecuaria. 2017. Consulta en <http://clima.inifap.gob.mx/redinifap/estaciones.aspx>
6. UICN. Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza. Catálogo de especies en estado de conservación. 2017. <https://www.iucn.org/es>
7. Ramírez-Delgadillo, M. Metodología para realizar y presentar los informes de sobrevivencia inicial (ISI) de las plantaciones forestales comerciales (aspectos técnicos). Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). Coordinación General de Producción y Productividad. 2011.

PÉRDIDA DE MATERIAL GENÉTICO POR LA CONTAMINACIÓN AMBIENTAL EN JUANACATLAN VS ZONA METROPOLITANA DE GUADALAJARA, JALISCO EN UN MODELO DE GATOS.

Dalia Lizeth Santos-Orozco¹, María Luisa Ramos-Ibarra¹, Francisco Javier Parra-Cervantes², Olivia Torres-Bugarín³, Esthela Cervantes de Parra, Mario Real Navarro⁴ y Alicia Torres-Rodríguez⁵.

¹Lab. Toxicología Genética, Salud Pública, Div. Ciencias Veterinarias, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara; ²Instituto Mexicano del Seguro Social; ³Universidad Autónoma de Guadalajara; ⁴Depto. Salud Pública, Div. Ciencias Veterinarias, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias Universidad de Guadalajara; ⁵Depto. De Estudios de Estado y Sociedad, Centro Universitario de Ciencias Sociales y Humanidades, Universidad de Guadalajara. daliabiologia.cucba@gmail.com

RESUMEN

En Juanacatlán se han presentado en sus habitantes, altos índices de enfermedades, crónico-degenerativas, como insuficiencia renal y cáncer. Estas se asocian al efecto genotóxico de contaminantes ambientales. Para detectar dicho daño, se utilizó un modelo en gatos por ser un bioindicador micronucleogénico (pérdida de ADN) que presenta un sistema reticuloendotelial deficiente para retirar de la circulación las células con micronúcleos (MN=fragmentos o cromosomas completos que se pueden visualizar en un frotis de sangre periférica). Este modelo también ayuda a evaluar de forma indirecta las condiciones medioambientales que rodean a los habitantes de dicho municipio (zona considerada de riesgo por los altos índices de metales pesados entre otros contaminantes) por tener el gato un comportamiento territorial lo que los hace ideal para estudiar un área en específico donde ellos desarrollan todo su ciclo de vida. Se tomaron muestras de sangre a gatos de Juanacatlán y Zona metropolitana de Guadalajara (ZMG) como referencia. Las muestras se fijaron y se tiñeron con naranja de acridina (tinción específica para ácidos nucleicos). El análisis se realizó mediante un microscopio de fluorescencia con objetivo 100X para obtener la frecuencia de eritrocitos micronucleados (EMN) y poder determinar pérdida de material genético (genotoxicidad). Se realizó estadística descriptiva (promedio \pm desviación estándar) y se realizó prueba *U de Mann-Whitney* con una $p < 0.05$. Las frecuencias de EMN de los gatos de Juanacatlán fue 18.03 ± 4.8 vs 12.01 ± 4.95 de la ZMG con valor de $p = 0.0009$. Se encontró incremento significativo en la frecuencia de EMN en sangre periférica de los gatos de Juanacatlán vs ZMG, lo que indica que estos presentan mayor pérdida de material genético; ocasionado por los agentes que se encuentran presentes en ese municipio, principalmente de aquellos que contaminan el río Santiago. Por lo tanto, este trabajo sugiere que se realicen monitoreos recurrentes, empleando bioindicadores micronucleogénicos en diversas zonas donde se sospeche mayor riesgo de exposición a cancerígenos como los metales pesados entre otros.

INTRODUCCIÓN

En el estado de Jalisco se instaló uno de los primeros corredores industriales ubicado en el municipio de Juanacatlán, región considerada rica en recursos naturales, sobre todo en agua debido a la presencia del río Santiago (Delgadillo & Gutiérrez, 2016); durante las décadas anteriores se dio un rápido incremento en la población de la localidad, pero no de los servicios públicos como drenaje, las aguas residuales de las residencias son vertidas al río sin tratamiento alguno, al igual que los desagües de las industrias vierten sus desechos con metales pesados como arsénico, mercurio, plomo, zinc, entre otros (Rodríguez-Padilla, 2011), generó la muerte del río y riqueza natural de la región, convirtiendo a este en uno de los más contaminados en el país y por ende un factor de riesgo para los pobladores (González *et al.* 2009, CONAGUA, 2012).

En la actualidad la población de Juanacatlán presenta alto índice de enfermedades infecciosas, crónico-degenerativas y diversos tipos de cánceres, la Secretaría de Salud en 2015 informó que estas enfermedades se pueden asociar al efecto de contaminantes ambientales antes mencionados (SINAIS/INEGI, 2015). Los metales pesados, así como otros tipos de contaminantes se les clasifican como genotóxicos, porque tienen la capacidad de dañar el ADN, este daño suele ser silente, y se asocia a enfermedades antes mencionadas (Zúñiga-González, *et al.* 1996; Gómez-Meda, *et al.* 2017).

Para detectar este daño existen varios métodos uno de ellos es la prueba de micronúcleos (MN); este estudio se puede realizar con un frotis de sangre periférica, para lo cual comúnmente se emplean modelos animales, que tengan un sistema retículoendotelial deficiente y de este modo las células anormales permanezcan en la circulación para ser observadas en eritrocitos de simple frotis sanguíneo. Los micronúcleos son fragmentos de cromosomas o cromosomas completos que se pierden durante la mitosis celular, por lo que las células hijas en su núcleo, llevan en ADN incompleto (Zúñiga-González, *et al* 1996; 2000; 2001; Zamora-Pérez *et al*, 2008).

Se han establecido diversos tipos de modelos animales para evaluar los efectos de genotóxicos, uno de estos modelos es el gato doméstico que fue descrito por Zúñiga y col., en 1996, estableciendo su frecuencia basal de eritrocitos micronucleados (EMN) es de 8.4 ± 2.5 (Zúñiga *et al* 1996; Zamora-Pérez *et al* 2008), los gatos presentan un comportamiento territorial, por lo que rara vez salen de su zona de confort, esto los hace ideales para realizar estudios de monitoreo que requieran abarcar solo un área en específico (Zamora-Pérez *et al*. 2008).

OBJETIVO

Evaluar la pérdida de material genético por contaminación ambiental de Juanatlán, Jalisco vs Zona Metropolitana de Guadalajara, en un modelo de gatos.

PARTE EXPERIMENTAL

Se muestreo un total de 30 gatos (15 en Juanacatlán y 15 de ZMG), tomando en cuenta los siguientes parámetros: sexo indistinto y 3 meses como tiempo mínimo de habitar en la zona, se realizaron dos frotis de sangre periférica de cada gato. Las muestras se fijaron en etanol, posteriormente se tiñeron con naranja de acridina (tinción específica para ácidos nucleicos), se procedió a la lectura de las muestras en el microscopio óptico de fluorescencia para realizar el conteo de eritrocitos micronucleados (EMN)/10,000 ET (eritrocitos totales), eritrocitos policromáticos micronucleados (EPCMN)/1,000 eritrocitos policromáticos (EPC) y la proporción de EPC/1,000 ET. Se realizó estadística descriptiva (promedio \pm desviación estándar) y se aplicó la prueba *U de Mann-Whitney* con valor de $P < 0.05$.

RESULTADOS

Se encontró que los promedios en las frecuencias de EMN en los gatos que habitan en Juanacatlán fue de: 18.03 ± 4.8 mientras que para los de la ZMG se obtuvo 12.01 ± 4.95 con un valor de $P = 0.0009$. Para los valores en las frecuencias de EPC en los gatos de la zona de interés fue 1.37 ± 1.68 y de 0.44 ± 0.34 para los gatos de referencia con un valor de $P = 0.6475$. Por último, se obtuvieron las frecuencias de EPCMN; las cuales fueron cercanas a 0 debido a la baja presencia de eritrocitos policromáticos, característica particular de los felinos; así como de otras especies descritas por Zúñiga-González y cols.

Cuadro 1. Frecuencia de eritrocitos micronucleados (EMN) y eritrocitos policromáticos (EPC) en gatos de Juanacatlán y Zona Metropolitana de Guadalajara (ZMG).

Grupo	n	EMN	EPC
Gatos de Juanacatlán	15	$18.03 \pm 4.8^*$ ($P=0.0009$)	1.37 ± 1.68 ($P=0.6475$)
Gatos de ZMG	15	12.01 ± 4.95	0.44 ± 0.34

Los resultados se expresan con promedio \pm desviación estándar. n: tamaño de muestras. Se aplicó prueba *U de Mann-Whitney* con valor de $P < 0.05$.

En el cuadro 1 se puede apreciar de manera más clara, que la pérdida de material genético en los animales muestreados en Juanacatlán, es más elevada que los de la zona metropolitana de Guadalajara, a pesar de que la concentración poblacional es menor en Juanacatlán por lo que se

creía que a menor población menor contaminación, pero en base a estos resultados y otras evidencias aportadas por otros estudios e investigaciones, podemos intuir que esto se debe a la presencia de agentes peligrosos en el río y la localidad de Juanacatlán, en su mayoría metales pesados entre otros.

CONCLUSIONES

El incremento significativo en la frecuencia de EMN en sangre periférica de los gatos de Juanacatlán vs los de la ZMG; indudablemente, evidencia la pérdida de material genético ocasionado por los agentes que están presentes en la zona en especial los que contaminan el río, entre ellos están los elementos cancerígenos (metales pesados, entre otros), que se encuentran presentes en Juanacatlán. Por lo que este trabajo sugiere que se realicen monitoreos recurrentes, no sólo cuantitativos de los contaminantes en el río donde se sospeche que existe mayor carga de contaminantes cancerígenos; sino también, del daño que causan al material genético empleando bioindicadores micronucleogénicos como el gato.

BIBLIOGRAFÍA

1. Delgadillo, H. P., & Gutiérrez, J. S. (2016). El contexto de la problemática ambiental de los municipios de Juanacatlán y El Salto, Jalisco y la educación ambiental como proceso articulador de la participación comunitaria para el desarrollo sustentable. *Mercados y Negocios (1665-7039)*, 8, 2-9.
2. González, P. M., & Hernández, E. (2009). Impactos de la contaminación del Río Santiago en el bienestar de los habitantes de El Salto, Jalisco. *Espacio*
3. Sistema Nacional de Información en Salud (SINAIS)/INEGI 2002 - 2013. en "información relevante estadística de salud del municipio de Juanacatlán, secretaria de salud. 2015
4. Zúñiga, G., Torres-Bugarín, O., Ramírez-Muñoz, M.P., Ramos, A., Fanti-Rodríguez, E., Portilla, E., García-Martínez, D., Cantú, J.M., Gallegos-Arreola, M.P., Sánchez-Corona, J. (1996). Spontaneous micronuclei in peripheral Bloom erythrocytes from 35 mammalian species. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 369, 123-127
5. Zamora-Pérez, A., Gómez-Meda, B.C., Ramos-Ibarra, M.L., Batista-González, C.M., Luna-Aguirre, J., González-Rodríguez, A., Rodríguez-Ávila, J.L., Zúñiga-González, G.M. (2008). Los Felinos: ¿Una alternativa en estudios de toxicología genética? *International Journal a Tropical Biología and Conservativo*, 56(2). 696-974
6. Comportamiento del gato, <http://www.mergar.com>, <http://www.mergar.com/Animales/Curso%20auxiliar/Animales%20de%20compañía/Gatos%20/Comportamiento%20del%20gato.pdf>
7. Gómez-Meda, B. C., Zúñiga-González, G. M., Sánchez-Orozco, L. V., Zamora-Pérez, A. L., Rojas-Ramírez, J. P., Rocha-Muñoz, A. D., & Sánchez-Parada, M. G. (2017). Buccal micronucleus cytome assay of populations under chronic heavy metal and other metal exposure along the Santiago River, Mexico. *Environmental monitoring and assessment*, 189(10), 522.
8. Zúñiga-González G., Torres-Bugarín O., Luna-Aguirre J., González-Rodríguez A., Zamora-Perez A., Gómez-Meda B.C., Ventura-Aguilar A.J., Ramos-Ibarra M.L., Ramos-Mora A., Ortiz G.G., Gallegos-Arreola M.P. (2000), Spontaneous micronuclei in peripheral blood erythrocytes from 54 animal species (mammals, reptiles and birds): Part two; *Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 467: 99-103.
9. Comisión estatal del agua Jalisco, (2012), resultados del monitoreos río Santiago, río Zula y arroyo el ahogado, octubre, p.11
10. Zúñiga-González, G., Torres-Bugarín, O., Ramos-Ibarra, M.L., Zamora-Pérez, A., Gómez-Meda, B.C., Ventura-Aguilar, A.J., Ramos-Mora, A., Ortiz, G.G., Álvarez-Moya, C., González-Rodríguez, A., Luna-Aguirre, J., & Gallegos-Arreola, M.P. (2001). Variation of Micronucleated Erythrocytes in peripheral blood of *Sciurus aureogaster* in Relation to Age: An increment of micronucleated polychromatic erythrocytes after the administration of

- colchicine. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 494, 173-177.
11. Rodríguez-Padilla, J.J. (2001) "Situación del tratamiento de aguas residuales municipales en el estado de Jalisco". En *Renglones*, revista del ITESO, núm.49: El agua, entre la disputa y el derroche. Tlaquepaque, Jalisco: ITESO

EFFECTO DE LA VERMICOMPOSTA SOBRE LA RIQUEZA DE NEMATODOS FITOPARÁSITOS BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO

Julia Inocencia Cortés Sereno, Juan Carlos González Cortés, Magdalena González Alejandre,
María Elena Granados García

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

RESUMEN

Los nematodos tienen gran impacto en la economía mundial, ya que son parásitos de cultivos productores de alimento. El maíz es uno de los cultivos de mayor importancia alimentaria para nuestro país, observándose una disminución en su productividad, debido a la degradación física, química y biológica del suelo.

El objetivo del presente estudio fue evaluar la riqueza de los nematodos en las diferentes proporciones de suelo-vermicomposta con plantas de maíz. El diseño utilizado fue bloques completamente al azar con 3 repeticiones, durante 3 periodos. Se utilizaron 105 macetas de 500 g con un testigo absoluto de suelo (S)(T1) y otro para vermicomposta (C)(T2), los mixtos 85% suelo y 15% composta (T3), 70% S-30% C (T4), 60% S - 40% C (T5), 50% S-50% C (T6) y 100% S-26% de fertilizante (T7). Se realizó la caracterización física y química del suelo y la vermicomposta.

Los resultados obtenidos mostraron que en el primer periodo los tratamientos con mayor riqueza de nematodos son el T6 y el T4, en el segundo los T6 y T1 y en el tercer periodo el T5 y T3. Los tratamientos con menor riqueza en el primer periodo son: T1 y T2, en el segundo T2 y T7 y en el tercero T2 y T7. Se observó que la mayor cantidad de nematodos se encontró en estrato de suelo, mientras que en la vermicomposta disminuyeron con el tiempo. Se puede concluir que los tratamientos con proporciones medias y bajas (T6 y T4) actúan de manera adecuada en la disminución de la riqueza de nematodos.

INTRODUCCIÓN

Los nematodos son gusanos redondos que se encuentran prácticamente en todos los hábitats de la tierra. Comprende uno de los grupos más numerosos del reino animal. (Hugot *et al.*, 2001). Los nematodos tienen gran impacto en la economía mundial, ya que son parásitos de cultivos productores de alimento, fibra, madera, así como plantas de uso ornamental, otros son de vida libre y contribuyen a la sostenibilidad de la biosfera manteniendo la fertilidad de los suelos a través del reciclaje de nutrientes (Guzmán *et al.*, 2012). Los nematodos fitoparásitos solo buscan satisfacer sus necesidades nutricionales (Sosa *et al.*, 1997) pero pueden dañar las raíces, bulbos y frutos. Los nematodos para que puedan desarrollarse, necesitan de factores bióticos y abiótico (Frapolli, 2000). El daño causado directamente por los nematodos en su mayoría parece ser producido por la perforación y secreción de saliva introducida en los tejidos de las plantas (Agrios, 2005). Para reducir los daños causados por estos organismos en los cultivos y suelos se han utilizado diferentes tipos de agroquímicos, sin embargo, se han realizado estudios donde se comprueba que una parte importante se lixivia o se libera a la atmósfera. Una de las alternativas que existen para reducir la utilización de agroquímicos y disminuir las poblaciones de nematodos es la vermicomposta la cual es un producto resultante de la transformación digestiva y metabólica de la materia orgánica, por las lombrices de tierra. Se utiliza fundamentalmente como mejorador o enmienda orgánica de suelos (Domínguez, 2010). El maíz es un cultivo importante ya que en México es considerado como producto básico de alimentación y ayuda a la economía del país a través de la importación y exportación.

TEORIA

Frapolli (2000) menciona que se consideran importantes para el ciclo de vida de los nematodos los factores bióticos como: disponibilidad del alimento, enemigos naturales, depredadores, (hongos y nematodos), parásitos (bacterias, hongos, protozoos y virus), competencia y resistencia de la planta huésped. Los abióticos como: temperatura del suelo, afecta actividades vitales como la reproducción, el ciclo biológico, movimiento desarrollo y supervivencia. Temperaturas por debajo de 5 °C o por encima de 35 °C son fatales para la mayoría de los nematodos fitoparásitos, aunque algunos están adaptados a condiciones extremas.

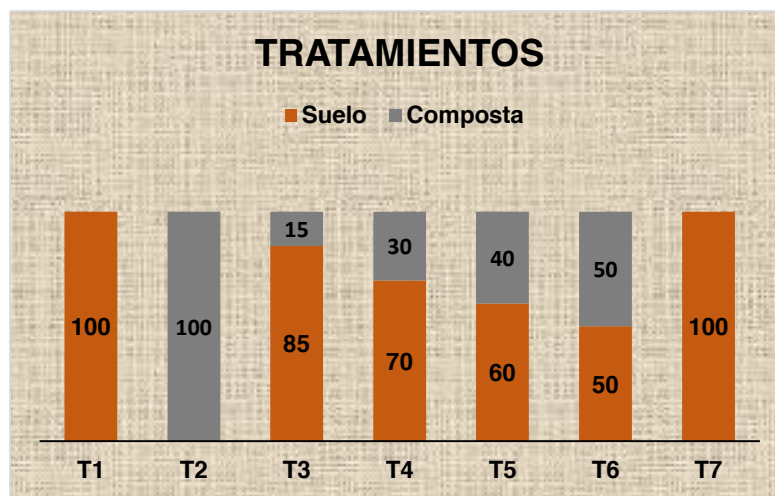
Humedad del suelo, es uno de los factores importantes que influyen en sus poblaciones. Ya que requieren un medio húmedo para moverse y desarrollar sus actividades sobre las raíces. Las mejores condiciones de humedad para ellos se producen cuando el contenido de agua en el suelo se limita a una película delgada envolviendo las partículas del suelo. El exceso de agua disminuye o anula la falta de oxígeno y la presencia de toxinas liberadas por organismos anaerobios. Textura del suelo, la actividad locomotriz de los nematodos depende del diámetro de los poros y del tamaño de las partículas del suelo. Composición química del suelo, incluye la salinidad, pH, materia orgánica y fertilizantes. La variación del pH dentro del suelo, entre 5 y 8 tiene poco efecto sobre las actividades de los nematodos.

Bulluck *et al.* (2002) y Nardi *et al.* (2004) observaron que tras la adición de diferentes tipos de vermicomposta, aumentaba la abundancia de microorganismos beneficiosos para el crecimiento vegetal, reduciéndose el número de microorganismos patógenos, y además aumentaba la actividad biológica de los ácidos húmicos extraídos del suelo con efectos hormonales similares a los de las giberelinas sobre plantas de maíz.

PARTE EXPERIMENTAL

El estudio se llevó a cabo en un invernadero, ubicado en la proximidad del edificio B-4, de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo en la ciudad de Morelia. Para estimar la población de nematodos se ocuparon 105 macetas de plástico de 15x15 cm. El diseño experimental fue el de bloques completamente al azar. El suelo con el que se trabajó fue obtenido de zona agrícola de la comunidad de las Joyas de la Huerta municipio de Morelia.

La semilla de maíz utilizada fue del híbrido albatros, la germinación se realizó medio MS y después pasadas a macetas en el invernadero. Se formularon 7 tratamientos con 3 repeticiones, muestreados cada 30 días durante 3 periodos (Grafica 1).



Grafica 1. Tratamientos con los diferentes tipos de mezclas utilizados para el trabajo.

Análisis en laboratorio: Para la caracterización del suelo y la vermicomposta se realizaron varias pruebas físicas (Textura, densidad aparente y real), químicas (materia orgánica pH). Se registró las temperaturas en invernadero para conocer la variación térmica durante el experimento y se determinó la pérdida de humedad para la implementación de la periodicidad del riego.

Extracción y montaje de nematodos: La técnica que se utilizó para la extracción de nematodos fue la de centrifugación, modificada de Cepeda (1995). Después de la extracción los especímenes extraídos fueron teñidos con azul de metileno, fijados en lactofenol claro para las laminillas semipermanentes y en glicerina o bálsamo de Canadá para laminillas permanentes.

RESULTADOS

Características de los sustratos utilizados.

De acuerdo con el triángulo de texturas (tomado del manual para el curso de edafología de la UMSNH) se determinó que la clase textural de suelo con el que se trabajó corresponde a franco arcilloso y la vermicomposta a la clase arenosa.

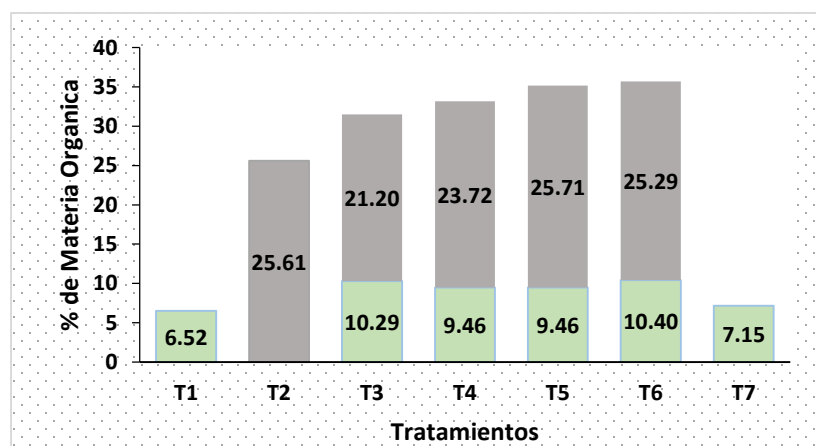
SUELO	Media±DE
Densidad Aparente	1.043 ± 0.015
Densidad Real	2.225 ± 0.074
Porosidad	53.25 ± 2.29

Tabla 1. Propiedades físicas del suelo.

VERMICOMPOSTA	Media±DE
Densidad Aparente	.431 ± 0.025
Densidad Real	1.311 ± 0.0208
Porosidad	67.17 ± 1.57

Tabla2. Propiedades físicas de la vermicomposta.

El pH que se obtuvo para el suelo fue de 4.98 (muy fuertemente ácido) y para la vermicomposta de 6.48 (ligeramente ácido) (Tomado de Singer Munns, 1992).



Grafica 2. Comparación Materia Orgánica en los tratamientos.

De acuerdo con los análisis realizados hay menor cantidad de materia orgánica en el suelo que en la vermicomposta, ésta, tiene alta capacidad de retención de humedad y porosidad elevada, que facilita la aireación y el drenaje de suelos (Reséndez *et al.*, 2008).

Riqueza de nematodos en los tratamientos

El total de géneros encontrados fue de 23, en el periodo 1 se encontró un máximo de géneros de 17 y un mínimo de 10 géneros. En el segundo periodo el mayor número de géneros fue de 18 y un mínimo de 9. En el tercer periodo en los tratamientos hubo un máximo de 20 géneros y un mínimo de 8. De los 24 géneros solamente 2 (*Acrobeloides sp.* y *Helicotylenchus*) tuvieron una frecuencia de 100%. Los géneros *Aphelenchus*, *Cephalobus* y *Cruzema* presentan una frecuencia de 95%. Los géneros que aparecen menor cantidad de veces y por lo menos en un periodo, *Aphelenchoides* y *Mononchus*, estando presentes solamente en dos periodos y en dos tratamientos.

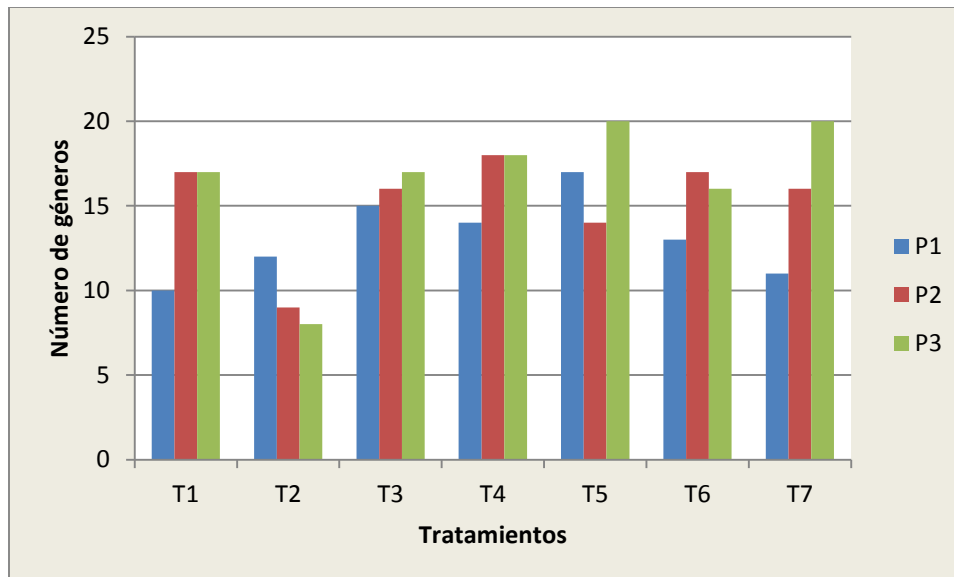
La riqueza muestra un equilibrio entre nematodos fitoparásitos y de vida libre, lo cual puede ser un indicador de un ambiente sano de la rizosfera.

En el gráfico 3, se aprecia que la riqueza de nematodos se incrementa con el paso del tiempo y puede estar asociado a la etapa fenológica del cultivo, ya que se llegó a la etapa de floración.

Asimismo, se observó que el número de géneros disminuye con el tiempo en la vermicomposta (T2) en tanto se incrementa en el suelo (T1). Lo anterior muestra que las mezclas favorecen la riqueza de nematodos.

	Periodo 1							Periodo 2							Periodo 3							F	%	
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7			
1 Acrobeles			p		p			p		p	p		p	p	p		p		p	p	p		12	57
2 Acrobelloides	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	21	100
3 Aphelenchus	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	20	95
4 Caenorhabditis	p				p		p	p		p	p	p	p	p	p				p	p	p	p	14	67
5 Cephalobus	p	p	p	p	p	p	p	p		p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	20	95
6 Ditylenchus					p			p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	15	71
7 Cruznema	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	20	95
8 Eucephalobus	p	p	p	p		p		p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	16	76
9 Helicotylenchus	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	21	100
10 Heterodera	p		p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p		p	p	p	p	19	90
11 Mesorhabditis	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p			p	p			p	p	18	86
12 Panagronaimus		p		p		p														p		p	4	19
13 Pelodera			p	p	p	p		p		p	p	p	p	p	p	p				p	p	p	15	71
14 Pratylenchus		p	p	p	p	p	p	p		p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	19	90
15 Rhabditis	p		p	p	p	p				p		p					p	p	p	p	p		12	57
16 Rotylenchus				p	p			p	p	p	p	p	p	p	p	p	p		p	p	p	p	15	71
17 Tylenchorhynchus		p	p	p	p	p	p	p			p		p	p	p	p	p		p	p	p	p	15	71
18 Tylenchus		p	p		p	p	p	p		p	p	p	p	p	p	p	p		p	p	p	p	14	67
19 Criconemoides		p	p																p	p		p	5	24
20 Aphelenchoides								p			p												2	10
21 Paratylenchus																	p		p	p	p	p	6	29
22 Trichotylenchus										p							p		p	p	p	p	7	33
23 Mononchus																			p		p		2	10
No. de géneros	10	12	15	14	17	13	11	17	9	16	18	14	17	16	17	8	17	18	20	16	20			

Tabla 3. Géneros encontrados durante los tres periodos en los 7 tratamientos



Grafica 3. Comportamiento de la riqueza en los tres periodos del experimento.

CONCLUSIONES

- Se encontraron 10 géneros de vida libre *Caenorhabditis*, *Cruznema*, *Mesorhabditis*, *Pelodera*, *Rhabditis*, *Cephalobus*, *Eucephalobus*, *Acrobeles*, *Acrobelloides*, *Panagronaimus*
- Se encontraron 12 géneros fitoparásitos (*Aphelenchus*, *Aphelenchoides*, *Ditylenchus*, *Tylenchus*, *Tylenchorhynchus*, *Rotylenchus*, *Helicotylenchus*, *Trichotylenchus*, *Pratylenchus*, *Heterodera*, *Criconemoides* y *Paratylenchus*.) y un depredador *Mononchus*.

- La riqueza disminuye con el tiempo y parece estar asociada al desarrollo fenológico del cultivo.

LITERATURA CITADA

1. Agrios, G. N., 2005. Plant pathology. fifth edition. Elsevier. E. U. A. 922 p.
2. Bulluck, L. R., Brosius, M., Evanylo, G. K. & Ristaino, J. B. 2002. Organic and synthetic fertility amendments influence soil microbial, physical and chemical properties on organic and conventional farms. *Applied Soil Ecology*. 19: 147-160.
3. Domínguez, J., Gómez, B. M. & C. Lazcano. 2010. Propiedades bioplaguicida del vermicomposta. *Acta Zoológica Mexicana (n.s.)*, Número Especial 2: 373-383.
4. Fernández, Y. F. 1943. El nemátodo de la raíz del tomate. *Mems. Soc. Cienc. Nat. "La Saile"*(Caracas) 3(8):13-15.
5. Frapolli Elvira D. Los nematodos fitoparásitos. Consejería de agricultura y pesca. Servicio de Publicaciones y Divulgación. COMUNICACIONES 1+D n° 30/00.
6. Guzmán, Ó. A, Castaño, Z. J. & Villegas, E. B. 2012. Principales nematodos fitoparásitos y síntomas ocasionados en cultivos de importancia económica. *Agron.20 (1):38 – 50,2012*.
7. Nardi, S., F. Morari, A. Berti, M. Tosoni, & L. Giardini. 2004. Soil organic matter properties after 40 years of different use of organic and mineral fertilisers. *European Journal of Agronomy* 21:357-367.
8. Reséndez, L., G., Pedro C. R., Víctor M. C., José R. C., José P. M. y Norma R. D. 2008 "Genotipos de tomate en mezclas de vermicompost: arena en invernadero." Publicado en *Terra Latinoamericana* 26: 103-109.
9. Singer M., 1992. Biological Nitrogen Fixation for sustainable agricultura: extended versions. 212 p.
10. Sosa C. 1997. Técnicas para el diagnóstico de enfermedades de las plantas. Diagnostico Fitosanitario II. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura Agencia de cooperación técnica de IICA en México. Pp. 99-101.

IMPLEMENTACIÓN DE UN MÉTODO DE VOLTAMPEROMETRÍA DE REDISOLUCIÓN ADSORTIVA (ADSV) PARA LA DETERMINACIÓN DE CROMO EN AGUA.

Rodolfo de Jesús Romero Hernández, Bernardo Gudiño Guzman

Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías

RESUMEN

La contaminación de agua es uno de los principales problemas a los que se enfrenta la sociedad, un ejemplo es la exposición de especies tóxicas de cromo (Cr) que afecta a organismos vivos. Esto es de relevancia absoluta a punto tal que la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha fijado como límite máximo para agua de consumo humano una concentración de 0.05 mg/L. El objetivo del presente trabajo es implementar un método analítico basado en AdSV-SW (Adsorptive Stripping Voltammetry-Square Wave) para la determinación de trazas de Cr en muestras de agua, utilizando el ácido dietiltetraaminopentaacético (DTPA) como ligante al cromo trivalente, en disoluciones amortiguadas a un pH de 6, a un potencial catódico de preconcentración de -0.8 V, empleando el método de adiciones sucesivas de estándar para su cuantificación. La técnica analítica por AdSV ofrece ventajas sobre otras: fácil operación, buena precisión y exactitud, así como costos relativamente bajos.

INTRODUCCIÓN

La contaminación de cuerpos de agua, además de afectar a la biota, reduce la disponibilidad del agua para distintos usos y se asocia con enfermedades en las poblaciones humanas. El control de la potabilidad y la calidad del agua son muy importantes, ya que éste es el medio de transporte de todas las sustancias y compuestos tanto biológicos como fisicoquímicos [1]. Se sabe que la presencia de metales pesados en el ambiente acuático causa severos daños a la vida acuática, además de que eliminan microorganismos durante los tratamientos biológicos de aguas residuales, lo que ocasiona que el proceso de purificación decaiga. Aunado a lo anterior las sales de estos metales pesados son solubles en agua y por consecuencia no pueden ser separadas por métodos ordinarios [2].

El cromo se encuentra presente en agua y suelo principalmente en dos estados de oxidación: Cr (III) o Cr (VI), aunque también puede encontrarse como óxido de cromo, sulfato de cromo, trióxido de cromo, ácido crómico y dicromato [3]. En presencia de la materia orgánica, el Cr (VI) presente en aguas y suelos es reducido a Cr (III); sin embargo, las altas concentraciones del ion en estado hexavalente pueden sobrepasar esta capacidad de reducción, lo que impediría su adecuada eliminación [4]. Se halla en rocas, suelo, animales y en las plantas, en concentraciones variables. En estado trivalente (III) es esencial para los seres humanos, en los que promueve la acción de la insulina [5].

La presencia de altas concentraciones de las formas (III) y (VI) en el ambiente, es dañina para la salud, causan problemas tales como: dermatitis irritativa, dermatitis alérgica, corrosión del tabique nasal destacando el asma bronquial, el cáncer de pulmón y el daño renal. El cuerpo requiere aproximadamente 1 µg de cromo absorbible (III) para mantener normal el metabolismo de la glucosa y de los lípidos [6].

La necesidad de respuestas analíticas rápidas y confiables, particularmente cuando se trata de determinar elementos tóxicos en muestras ambientales como el agua, es cada vez más frecuente. Las técnicas electroquímicas, poseen buena respuesta para la determinación de trazas de contaminantes en agua, dentro de estas técnicas cabe destacar voltamperometría de redisolución anódica (ASV), catódica (CSV) y voltamperometría de redisolución adsorptiva (AdSV).

TEORÍA

Las técnicas electroquímicas son una de las ramas principales de la química analítica, donde se hace uso de mediciones eléctricas (corriente, potencial o carga) con fines analíticos. La Voltamperometría es muy utilizada como técnica auxiliar en la química inorgánica, la fisicoquímica y bioquímica, no con fines analíticos sino para la realización de estudios básicos de procesos de oxidación y reducción en diferentes medios, procesos de adsorción sobre superficies y mecanismos de transferencia de electrones en superficies de electrodos químicamente modificadas.

La AdSV consta de dos pasos, primeramente se aplica un potencial catódico para la preconcentración del metal o el complejo (AdSV) sobre la gota de mercurio del electrodo de trabajo, y posteriormente se da un barrido en sentido inverso (de oxidación) donde el metal, su catión o el complejo se redisuelven en la disolución. Cabe destacar que la principal diferencia entre ASV y AdSV es que en ASV se deposita el metal electrofíticamente sobre el electrodo de trabajo durante la etapa de deposición y en AdSV el complejo se deposita simplemente por adsorción en la superficie del electrodo, y luego se electrolyza para dar la señal analítica.

El ácido dietilentriaminopentacético, es un ligando aminopolicarboxílico que puede ser ampliamente empleado como agente acomplejante en diversas técnicas de separación de metales como Co(III), Bi(III), Fe(III), Cr(III), V(IV), Pb(II), Hg(II), Co(II), Cu(II) i Ni(II) y para la determinación simultanea de iones metálicos con diferentes estados de oxidación tales como V(IV)/V(V), Cr(III)/Cr(VI) y Fe(II)/Fe(III), entre otras utilidades [7].

La principal propiedad química de los ácidos aminopolicarboxílicos (como el DTPA) es su habilidad para formar complejos estables y solubles en agua con muchos iones metálicos. Éstos forman un tipo especial de complejos metálicos porque coordinan al ion metálico formando uno o más anillos heteroatómicos, lo cual le brinda una mayor estabilidad a los complejos en comparación a los complejos metal-ligando en los cuales no hay presentes tales anillos; este fenómeno es el denominado “efecto quelato” [8].

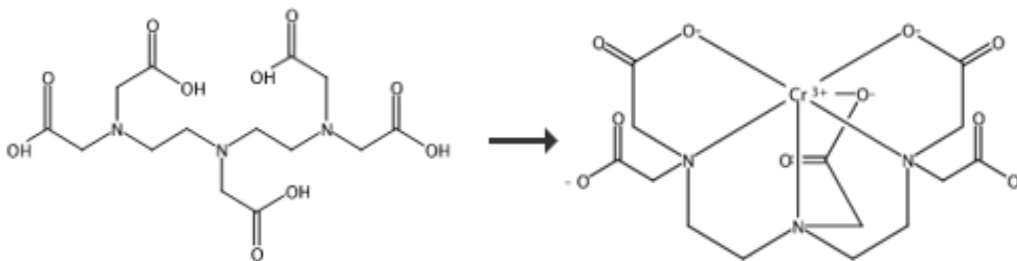


Figura 1. - Formación de complejo DTPA-Cr.

El ácido dietilentriaminopentacético, DTPA, es un derivado del EDTA, Posee 5 grupos carboxílicos y tres átomos de nitrógeno donadores de electrones, lo que lo convierte en un excelente ligando, capaz de formar compuestos muy estables.

La formación de este complejo es debido a que ocurre un enlace de transferencia electrónica con los O⁻ de los grupos carboxilo y una interacción con los pares libres de los nitrógenos, en solución acida los grupos carboxilos se desprotonan y permiten la interacción del Cr (VI), el cual es reducido a su forma Cr (III). Tomando en cuenta que el Cr (VI) tienen una conducta de tipo ácido de Lewis (duro) por lo que puede formar aductos estables del tipo $[CrX_3L_3]^n$

Método de adiciones múltiples de estándar

En el método de una adición de estándar, una cantidad conocida de una disolución estándar de analito se añade a una porción de la muestra. Las respuestas son medidas antes y después de la adición y utilizadas para obtener la concentración del analito, este supone una respuesta lineal.

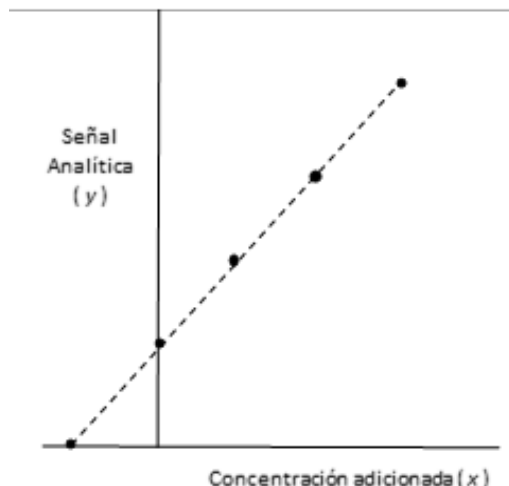


Figura 2. - Grafico de adición múltiple de estándar

La evaluación de la concentración de la muestra problema se realiza extrapolando a $y=0$, esto es debido a que la proyección de la línea será efectivamente el incremento debido al analito presente en la muestra, puesto que no se inicia de un valor de cero [9].

$$y = mx + b$$

$$y = 0$$

$$0 = mx + b$$

PARTE EXPERIMENTAL

Tratamiento de muestras.

Patrón: disolución de Cromo en una concentración de 1000 ppm.

Disolución estándar: se prepara una disolución estándar con una concentración de 10 ppm a partir de un patrón de 1000 mg/L.

Solución prueba: se prepara de la siguiente manera: en un matraz de 10 mL se coloca 1 mL de DTPA más 4.5 mL de Agua enseguida se le añade 20 μL de disolución estándar y se lleva a volumen con solución amortiguadora de acetato pH 6.

Bajo estas condiciones dicha solución de prueba quedaría con una concentración teórica (C_T) de 20 ppb de Cr (VI).

En la solución prueba se empleó una celda convencional de tres electrodos. Un electrodo de trabajo (WE): gota de mercurio, electrodo auxiliar (CE): carbón vítreo y electrodo de referencia (REF): Ag/AgCl/KCl 3 mol/L.

La incorporación N_2 hace que en la celda se mantenga en una atmósfera inerte, es decir, la solución está libre de oxígeno.

Electrodo de Trabajo	$\text{Cr}_2\text{O}_7^{2+} + 14\text{H} + 6\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Cr}^{3+} + 7\text{H}_2\text{O}$	$E_o = 1.33\text{V}$
Electrodo de Referencia	$\text{AgCl}_{(s)} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Ag}_{(s)} + \text{Cl}^-$	$E_o = 0.197\text{V}$
Reacción Global	$\text{Cr}_2\text{O}_7^{2+} + 6\text{Cl} + 6\text{Ag}_{(s)} + 14\text{H} \rightleftharpoons 2\text{Cr}^{3+} + 7\text{H}_2\text{O} + 6\text{AgCl}_{(s)}$	$E_o = 1.133\text{V}$

Estudio Voltamperométrico.

El analito se preconcentra en una gota de mercurio por 120 segundos, por una reducción, aplicando un potencial constante de -0.8 V y con agitación. Posteriormente se dejan transcurrir 8s como tiempo de equilibrio y Finalmente se hace el barrido voltamperométrico en dirección anódica dando lugar a la señal analítica.

Se realizaron adiciones de 20, 40 y 60 μL de la disolución estándar de 10 ppm directamente sobre la disolución prueba realizando la rutina de análisis entre cada adición y se roma la señal de corriente desde el voltamperograma obtenido. Se grafica los resultados y se calcula la concentración experimental (C_E) de la disolución prueba, por extrapolación utilizando el método de adición estándar

RESULTADOS

Para el cálculo del porcentaje de recuperación se sigue la siguiente formula:

$$\% \text{ Recuperacion} = \frac{C_E}{C_T} * 100$$

Donde:

C_E = Concentración experimental.

C_T = Concentración teórica.

Pruebas	C_T ($\mu\text{g/L}$)	C_E ($\mu\text{g/L}$)	% Recuperación	Coficiente de correlación
1	19.96	21.89	109.71	0.9948
2	19.96	20.27	101.6	0.9998
3	19.96	20.41	102.3	0.9954
4	19.96	21.89	109.69	0.9969

Tabla 1. - Datos de % recuperación.

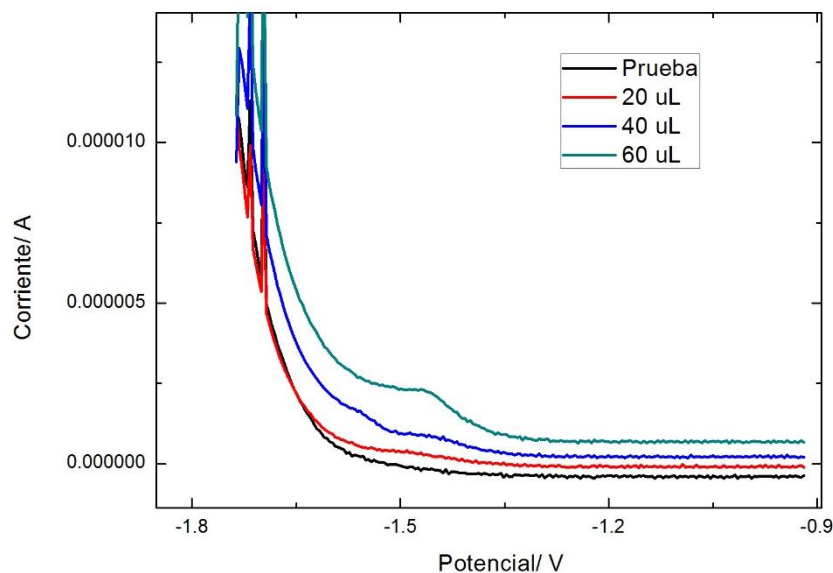


Figura 3. - Voltamperograma AdSV-SW a 20, 40 y 60 μL de disolución de estándar de 10 ppm de Cr.

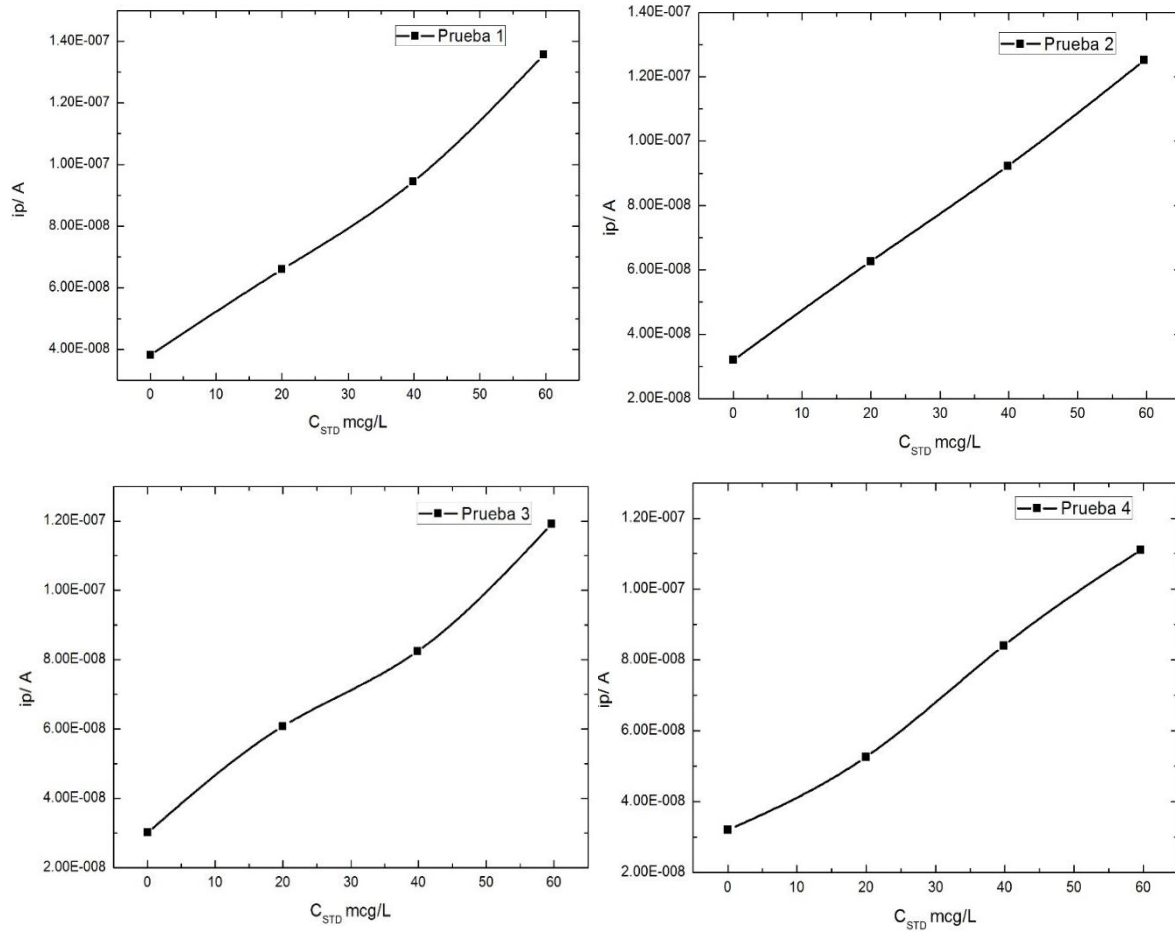


Figura 4. - Linealidad de Disolución Prueba tras adiciones de Disolución estándar. coeficiente de correlación (r). Prueba 1 r : 0.9948, Prueba 2 r : 0.9998, Prueba 3 r : 0.9954, Prueba 4 r : 0.9969.

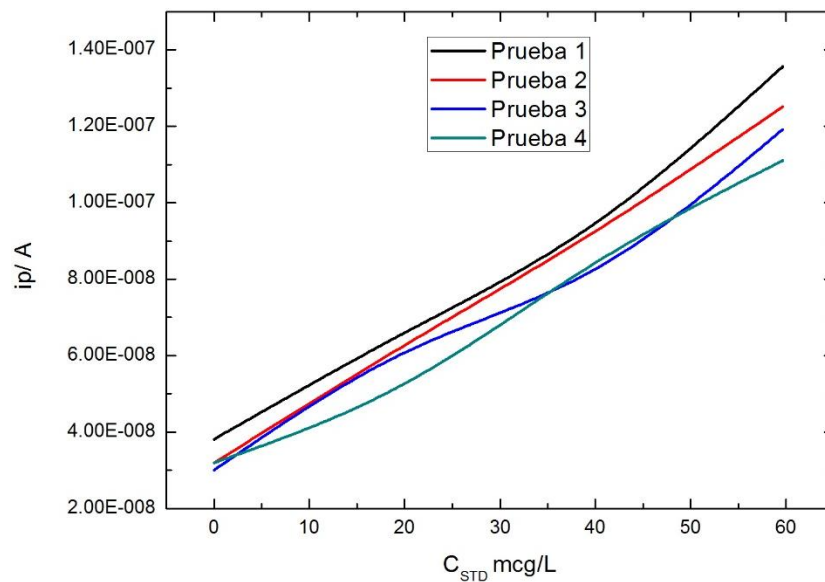


Figura 5. - Grafico de pendientes de las soluciones de prueba

CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos, se concluye que la técnica propuesta resulta satisfactoria, debido a que es posible medir Cr en agua con una exactitud aceptable en la solución de prueba. Se observa que el porcentaje de recuperación es aceptable 100-110 %. Sin embargo, el método se encuentra todavía en proceso de desarrollo, buscando las condiciones más apropiadas para cuantificar de una mejor forma al Cr (III) (pH, tiempos de deposición, posibles interferencias, etc).

BIBLIOGRAFÍA

1. J. Arboleda. "Teoría y práctica de la purificación del agua". Colombia: Ed. Mc Graw Hill, p. 31, 2000.
2. H. Hussein, F. Ibrahim, K. Kandeel and H. Moawad. "Biosorption of heavy metals from waste water using *Pseudomonas* sp. Environmental Biotechnology 7(1)", pp. 1023-1027, 2004
3. I. Zouboulis, K. Kydros and K. Matis. "Removal of hexavalent Chromium anions from solutions by pyrite fines", Water Research 29 (7), pp. 1755-1760, 1995.
4. Cervantes, J. Campos, S. Devars, F. Gutiérrez. "Interactions of chromium with microorganisms and plants", FEMS Microbiology Review 25, pp. 333-347, 2001.
5. R. Lora y H. Bonilla. "Remediación de un suelo de la cuenca alta del río Bogotá contaminado con los metales pesados cadmio y cromo". Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 13 (2), pp. 61-70, 2010.
6. Galvao, L., & Corey, G. (1987). Cromo. Metepec, México: Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud.
7. L.G. Sillén, Quart. Rev. Chem. Soc., 13, 146 (1959).
8. M. Bucheli-Witschel y T. Egli, FEMS Microbiology Reviews, 25, 69-106, (2001).
9. Evaluación del Tratamiento por electrocoagulación para la remoción de metales pesados en el agua del canal "La Aurora". Juanacatlán, Jal. (2017). Maestría. Universidad de Guadalajara, Centro universitario de Tonalá.
10. Olsen, K. B. (1994). Field Screening of Chromium, Cadmium, Zinc, Copper, and Lead in Sediments by Stripping Analysis. 2074-2079.

ESCUADRÓN DE RASTREO DE FAUNA SILVESTRE

Velma Yael Chávez Licón, Jesús Pablo Carrillo León

Universidad de Sonora

INTRODUCCIÓN

El estado de Sonora se encuentra ubicado en el noroeste de México en la frontera con Estados Unidos. Tiene una extensión de 184 934 km², lo que lo hace el segundo más grande del país, y ocupa cerca de 9.2% del territorio nacional. Por su ubicación biogeográfica, Sonora se localiza en una zona de transición entre la región Neotropical y la región Neártica. Colinda al oeste con el estado de Baja California y el Golfo de California, al sur con el estado de Sinaloa, al este con Chihuahua y al norte con Arizona y Nuevo México. Una buena parte de su superficie está cubierta por matorrales desérticos, razón por la cual se le considera como una región árida. Sin embargo, el sur del estado sustenta selvas caducifolias y la Sierra Madre Occidental posee bosques de pino-encino, lo que genera una diversidad ecosistémica considerable (Molina, 2010).

La fauna de mamíferos terrestres en el estado de Sonora comprende 126 especies. Este total excluye a las especies presentes en las islas del Golfo de California y sólo contempla las de presencia comprobada, es decir, aquellas de las que existe por lo menos un ejemplar colectado y depositado en una colección mastozoológica. Si se añaden las especies de posible ocurrencia, la cifra se eleva a ciento sesenta y uno (Caire 1978 y 1997; Hall, 1981; Álvarez-Castañeda y Patton, 1999 y 2000; Ceballos y Oliva, 2005).

Sonora presenta treinta especies de mamíferos terrestres bajo alguna categoría de riesgo en la NOM- 059-ECOL-2001 (Semarnat, 2002), lo cual constituye 24% del total. No obstante, ocho corresponden a subespecies insulares, lo que reduce a 18% la proporción de mamíferos continentales en alguna categoría de riesgo. Cabe mencionar que si bien algunas especies presentes en Sonora aparecen mencionadas en la Norma Ecológica, la(s) subespecie(s) protegida(s) no se encuentra(n) en el estado.

Los proyectos viales han sido considerados como obras que representan un beneficio social y económico para la región y mejoran la calidad de vida de los habitantes, por tanto, se constituyen en un elemento importante de desarrollo. Sin embargo, la apertura de carreteras, al igual que todas las obras de infraestructura y actividades humanas, causa efectos negativos sobre el ambiente, cuya identificación y evaluación es importante con el fin de diseñar estrategias que eviten, mitiguen y compensen estos impactos. Entre los efectos ecológicos más significativos de las carreteras pueden citarse los siguientes: fragmentación de ecosistemas, dispersión de especies exóticas y disminución de las poblaciones de especies de flora y fauna nativa, alteración del ciclo hidrológico, cambios microclimáticos, producción de material particulado y de ruido, y contaminación de las aguas y del suelo. La apertura de frentes de colonización es un impacto indirecto que puede generar en el mediano y largo plazo la reconversión en el uso del suelo, la destrucción de hábitats naturales y la reducción de la biodiversidad (Spellerberg, 1998).

Por estas consecuencias se creó el Escuadrón de Rastreo de Fauna Silvestre, para proteger a la fauna que se encuentra en la región sonorense y concientizar a la gente sobre el impacto que ha tenido la creación de carreteras sobre la fauna silvestre y el medio ambiente. Nosotros trabajamos con ecología de carreteras y rastreo de fauna mediante, huellas, excretas, o cualquier seña que demuestre que una especie estuvo o pasó por un sitio determinado.

TEORÍA

El atropellamiento de fauna es el impacto directo más fácil de reconocer en comparación con otros como fragmentación, deterioro del ecosistema y cambios en el comportamiento de los animales, en especial porque constantemente en las carreteras se observan los cuerpos de los animales muertos, aunque en algunos casos los animales quedan en un estado que dificultan la identificación de la especie. Con el rápido desarrollo de las ciudades y el aumento de las poblaciones humanas se ha incrementado la red vial, con lo cual ha surgido una nueva fuente de mortandad de animales que se ha venido convirtiendo en una amenaza cada vez mayor para las poblaciones de animales involucrados.

El índice de atropellamiento y su frecuencia están relacionados con diversos factores, tales como el flujo vehicular, la velocidad, la anchura de la vía, el comportamiento de las especies y la cobertura vegetal.

Los mamíferos silvestres pueden dejar rastros como huellas, excretas, madrigueras, o cualquiera señal. Esto nos sirve para conocer el movimiento de la fauna en un lugar determinado, pero se necesita tener el conocimiento de las características de esos rastros. Como medidas de excretas, forma y tamaño de huellas, tamaño de madrigueras, entre otras más.

PARTE EXPERIMENTAL

Ecología de carreteras

Se monitorea la carretera 14 en el estado de Sonora, al encontrar un animal muerto se detiene el carro, se toman coordenadas y fotografías, al igual que medidas de los organismos encontrados. También si hay avistamientos estos son registrados.

Transectos de rastreo:

1. Se realizan transectos lineales de 1.5 km en los puntos de muestreo (Mazocahui, Sonora)
2. Durante el monitoreo del transecto se toman registros fotográficos y coordenadas de heces, huellas, y otros tipos de señas.
3. Se mantienen los registros de los datos en una base de datos en el proyecto “Escuadrón de Rastreo de Fauna Silvestre” en Naturalista.

Cámaras trampa:

1. Se colocó una cámara en un lugar estratégico sobre el corredor de jaguar modelado por Northwestern Jaguar Recovery Unit, que es el transecto en Mazocahui.
2. Los datos de las cámaras se compartirán con la organización Sky Island Alliance, para asegurar su almacenamiento en la base de datos mundial Wildlife Insights.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos por el lado de ecología de carreteras han sido en su mayoría zorrillos, tlacuaches y zorro gris los más afectados en carreteras. Los menos afectados han sido el coyote, ya que sólo se ha encontrado 1 afectado. Por otra parte, en el rastreo de huellas, excretas, entre otros, han sido los más abundantes el mapache, venado, gató montés, pecarí de collar. Se han encontrado excretas de felinos, como puma y gato montés, de coyote, zorro gris, pecarí de collar, liebre, conejo del desierto, entre otros mamíferos.

CONCLUSIONES

En este proyecto se ha comprendido que aún falta generar información y material de difusión sobre fauna silvestre, conservación y especies que están en peligro de extinción. Para eso es necesario dar pláticas sobre la importancia de estos temas, para que la gente aprenda a conservar la fauna de Sonora, y no sólo aquí, sino en todo México

BIBLIOGRAFÍA

1. Aranda-Sánchez, M. 2012. Manual para el rastreo de mamíferos silvestres de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
2. CEBALLOS, G. y G. OLIVA, eds. 2005. Los mamíferos silvestres de México. Conabio-Fondo de Cultura Económica, México, 988 p.
3. Molina-Freaner, F. y T. R. Van Devender. 2010. Diversidad biológica de Sonora. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Universidad Nacional Autónoma de México. México
4. SEMARNAT. 2002. Protección Ambiental. Especies Nativas de México de Flora y Fauna Silvestres. Categorías de Riesgo y Especificaciones para su Inclusión, Exclusión o Cambio. Lista de Especies en Riesgo. Diario Oficial de la Federación. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Norma Oficial Mexicana NOM-ECOL-059-2001, 6 de marzo, pp. 1-56.
5. SPELLERBERG, I. F. 1998. Ecological effects of roads and traffic: a literature review. En: Global Ecology and Biogeography Letters 7(5): 317-333.

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NUEVAS FASES CRISTALINAS MOLECULARES FOTOLUMINISCENTES DERIVADAS DEL TRIPTOFANO

Martha Virginia Sosa-Rivadeneira,¹ María Aranzazu Zavala Medina,¹ María Obdulia Sánchez-Guadarrama,¹ Primavera López Salazar,² Javier Martínez Juárez,² Gabriel Juárez-Díaz,³ Herbert Höpfl⁴

¹Centro de Investigación de la Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP). 14 sur Esquina San Claudio, San Manuel, 72570, Puebla, México.

²Centro de Investigación en Dispositivos Semiconductores, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (ICUAP). 14 sur Esquina San Claudio, San Manuel, 72570, Puebla, México.

³Facultad de Ciencias de la Computación, BUAP. 14 sur Esquina San Claudio, San Manuel, 72570, Puebla, México

⁴Centro de Investigaciones Químicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1001, C.P. 62209 Cuernavaca, Morelos, México

RESUMEN

Diversos compuestos orgánicos fluorescentes exhiben esta propiedad en solución, sin embargo, un número creciente de materiales fotoluminiscentes en estado sólido¹ ha llamado el interés de grupos de investigación, debido a que este fenómeno fotofísico puede ser aprovechado en aplicaciones de alta tecnología de interés general incluyendo diodos orgánicos emisores de luz (OLED), energía fotovoltaica orgánica (OPV), láseres orgánicos en estado sólido y en el diseño de quimioterapia y biosensores con aplicaciones útiles en el medio ambiente y ciencias biomédicas.² Bajo este contexto, se planteó preparar y caracterizar nuevas fases cristalinas moleculares multicomponentes derivadas del triptófano con diferentes co-formadores: bases dinitrogenadas (tales como el imidazol, el 1,4-diazabicyclo [2.2.2]-octano (DABCO) y el 4,4-dipiridil) y especies ácidas (ácido cloranílico, 2,5-dihidroxi-1,4-benzoquinona y ácido escuárico) a través de la técnica de molienda. Todos los compuestos obtenidos se caracterizaron por difracción de rayos X de polvos, espectroscopía IR y fotoluminiscencia.

De los resultados se pudo observar una modificación en la emisión de fotoluminiscencia de los compuestos obtenidos respecto a la emisión del triptófano base, obteniéndose un aumento mayor al 400% en el compuesto preparado con imidazol.

INTRODUCCIÓN

La unión no covalente juega un papel clave en la formación de estructuras de estado sólido basadas en moléculas orgánicas. Los materiales orgánicos cristalinos están constituidos por uno o varios compuestos químicos, los cuales dan lugar a cristales moleculares de múltiples componentes. En este contexto, el diseño de cristales multicomponentes, tales como sales, solvatos o cocrystalos,¹ ofrece la posibilidad de cambiar las propiedades fisicoquímicas del cristal sin cambiar las propiedades químicas de una molécula de interés además de que se pueden obtener por procesos simples de preparación.² Para ello se puede proponer un diseño racional de sólidos moleculares funcionales en la ingeniería de cristales,³ lo que permite comprender las interacciones intermoleculares que prevalecen en el cristal molecular. Por lo tanto, el cristal molecular multicomponente se ensambla considerando interacciones heteromoleculares, frecuentemente enlaces de hidrógeno, enlaces de halógeno y / o interacciones de π - π .⁴ Tales interacciones a menudo controlan aspectos estructuralmente notables del material cristalino que son responsables de posibles propiedades funcionales que se pueden emplear para diseñar materiales con características deseadas y específicas, desde compuestos farmacéuticos⁵ hasta materiales de aplicaciones tecnológicas tales dispositivos optoelectrónicos,^{2,6} sensores,⁷ y materiales ópticos no lineales.⁸ Los materiales moleculares multicomponente también han mostrado un gran potencial para mejorar la actividad biológica de los fármacos⁵ modulación en la fluorescencia² y aumento en la solubilidad de compuestos.⁹ Por ejemplo, Song y colaboradores lograron mejorar con éxito la solubilidad de la Lenalidomida a través de los métodos de cocrystalización.¹⁰ No obstante, el desarrollo de sistemas cristalinos de componentes múltiples aún se encuentra en una etapa inicial, y los ejemplos son todavía limitados.²

TEORÍA

Recientemente, los materiales en estado sólido basados en moléculas conjugadas π se han utilizado ampliamente en la investigación de materiales fotofuncionales (como la fluorescencia² y la óptica no lineal¹¹) y la electrónica molecular,¹² debido a sus excelentes propiedades optoelectrónicas. Se sabe que los arreglos moleculares y las interacciones intermoleculares en el estado sólido pueden influir en gran medida en el rendimiento de la luminiscencia y la capacidad de transporte electrónico. No obstante, las orientaciones moleculares hacia comportamientos ópticos / eléctricos deseables sigue siendo un problema científico a largo plazo. Por otro lado, la mayoría de los materiales conjugados π orgánicos presentan baja estabilidad térmica y cristalinidad,¹³ lo que ha limitado sus aplicaciones prácticas. En este sentido, la estrategia de multicomponentes puede mejorar la cristalinidad y la estabilidad térmica de los materiales moleculares a través de interacciones intermoleculares con unidades co-ensambladas.

Entre los compuestos π -conjugados se encuentran aminoácidos tales como el triptófano y la histidina, los cuales han sido utilizados para formar nuevos compuestos que presenten una modulación en su fluorescencia.

Así, Zhang y colaboradores¹⁴ reportan la preparación de complejos de Zn-Triptófano observando que la intensidad de los picos en el espectro de fotoluminiscencia de estos complejos aumenta dos veces o más en comparación con la del triptófano puro.

Por su parte, Caroline y colaboradores¹⁵ obtienen un nuevo compuesto cristalino derivado del Triptófano, el ácido fumárico y agua. En su caso se observa que el perfil fotoluminiscente presenta dos señales a 362 nm y 683 nm atribuyéndolo a la donación de protones del ácido carboxílico a la amina.

Otra investigación enfocada a este tipo de materiales, la reporta Yadav y colaboradores.¹⁶ En este trabajo se obtiene un nanomaterial semiconductor derivado de la Histidina y funcionalizado con CdS. La propiedad de fotoluminiscencia del compuesto CdS /histidina es mejor que la del compuesto CdS.

PARTE EXPERIMENTAL

El triptófano y el correspondiente co-formador se hicieron reaccionar en una relación equimolar 1:1 mediante la técnica de molienda en un mortero de ágata durante 20 minutos.

Los patrones de difracción de rayos X de polvos se obtuvieron con un difractómetro marca Bruker modelo D8 Discover con geometría de haces paralelos empleando la radiación de un tubo de cobre $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1.54 \text{ \AA}$) y un detector centelleo de NaI. El análisis por IR se llevó a cabo utilizando un espectrofotómetro ThermoScientific FT-IR Nicolet 6700. Las mediciones se realizaron en el rango $4000\text{--}400 \text{ cm}^{-1}$.

La caracterización por fotoluminiscencia se realizó a temperatura ambiente empleando un arreglo con fuente de excitación de láser de He-Cd de 325 nm de longitud de onda marca Kimmon, un monocromador de medio metro tipo Czerny-Turner marca ScienceTech y un fotodetector de Silicio marca Sciencetech.

RESULTADOS.

ANÁLISIS POR DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE POLVOS.

Los cristales moleculares multicomponentes se prepararon de acuerdo con lo descrito en la parte experimental. Los polvos generados de la molienda se caracterizaron por difracción de rayos X de polvos (PXRD) y los patrones obtenidos se compararon con los patrones de los correspondientes reactivos.

Compuestos derivados del triptófano y bases nitrogenadas: El patrón de rayos X de polvos para el compuesto Try-1 (Triptófano/DABCO) muestra la formación de una fase amorfa donde se observan los picos correspondientes a DABCO pero no los del triptófano, por lo que se propone que la molienda de los reactivos posiblemente modificó la estructura cristalina del triptófano. Sin embargo, para el compuesto Try-2 (Triptófano/4,4'-dipiridil) se observan los patrones correspondientes a las materias primas, por lo que se concluye no hubo reactividad entre los dos reactivos. Todo lo contrario, se observa del análisis del difractograma para Try-3 (Triptófano/imidazol), donde se obtiene una nueva fase cristalina bien definida sin la presencia de picos correspondientes a las materias primas de partida, Figura 1.

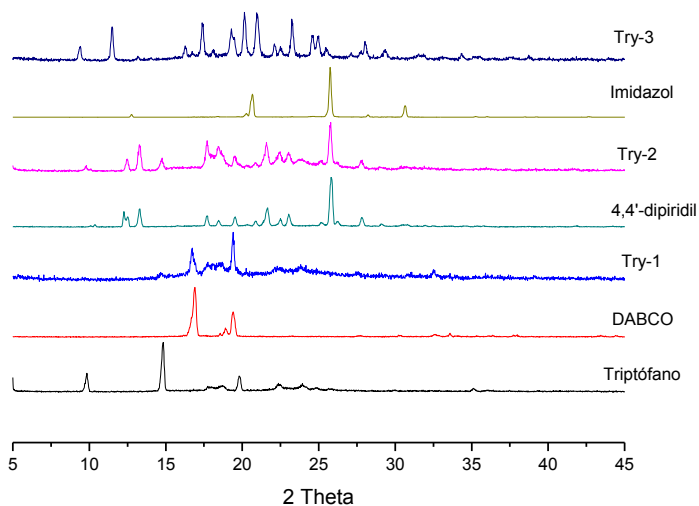


Figura 1. Comparación entre los patrones de difracción de rayos X de polvos de las materias primas y los productos de molienda Try-1, Try-2 y Try-3.

Compuestos derivados del triptófano y especies ácidas: Los difractogramas para los reactivos Try-4 (Tryptófano/2,5-dihidroxi-1,4-benzoquinona), Try-5 (Tryptófano/ácido escuárico) y Try-6 (Tryptófano/ácido cloranílico) permitieron observar la obtención de fases amorfas. Aparecen picos que indican la presencia del coformador correspondiente y no se observan picos correspondientes al triptófano. Esto hace proponer nuevamente que la molienda de estos reactivos modificó el arreglo cristalino del triptófano, Figura 2.

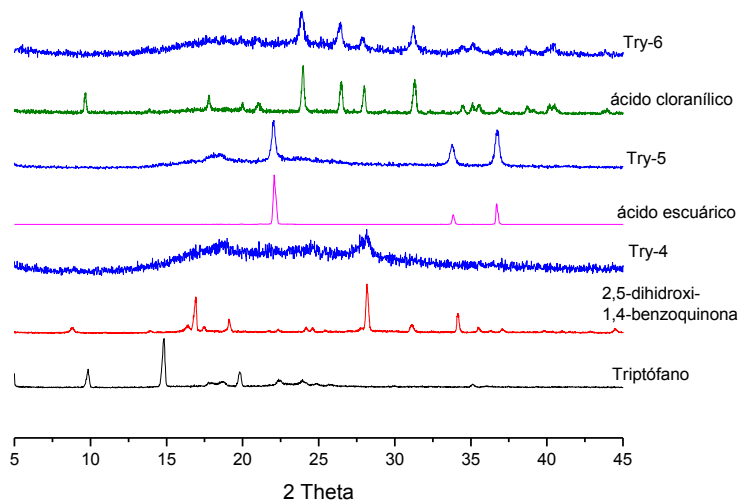


Figura 2. Comparación entre los patrones de difracción de rayos X de polvos de las materias primas y los productos de molienda Try-4, Try-5 y Try-6.

ANÁLISIS POR ESPECTROSCOPIA IR.

Los compuestos obtenidos de las moliendas se estudiaron por espectroscopía IR. En todos los casos se observan bandas que indican la presencia de un nuevo compuesto, sin embargo, a excepción del compuesto Try-3 también se observan las bandas correspondientes a los dos reactivos de partida. A continuación, describimos los datos obtenidos del espectro de IR del compuesto Try-3. Se pueden ver bandas anchas entre 2847-3034 que fueron asignadas a los enlaces C-H de los anillos aromáticos y las bandas entre 1417-1600 para C=C y C=N de los anillos del triptófano y del imidazol. Las bandas comprendidas entre 2564-3398 corresponden a los enlaces N-H y O-H presentes en el triptófano. Las bandas en 1450 (simétrica) y 1600 (asimétrica) indican la presencia del grupo carboxilato, (Tabla 1, Figura 3).

Tabla 1. Asignación de las bandas características en el IR para el compuesto Try-3 y sus correspondientes reactivos de partida.

ν (cm ⁻¹)	Triptófano	Imidazol	Try-3
C-H		3121-2910	3034-2847
C=C, C=N		1667-1443	1600-1417
N-H, O-H	3402-2083		3398-2564
C=O	1578		1600
	1452		1450

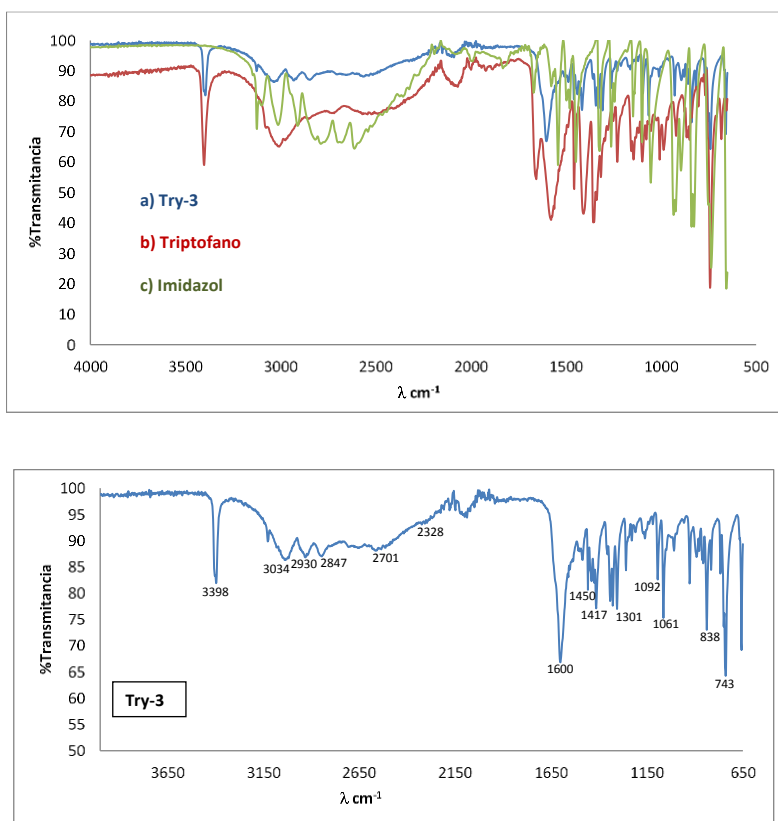


Figura 3. Espectros de IR de los reactivos de partida y el compuesto Try-3

ANÁLISIS POR FOTOLUMINISCENCIA.

Los espectros obtenidos por fotoluminiscencia del triptófano inicial y de los compuestos obtenidos se muestran en la Figura 4, en estos se observa que el triptófano presenta una emisión que abarca desde 400 hasta 700 nm centrado en 550 nm cubriendo toda la región visible, la emisión de los compuestos obtenidos presentan un corrimiento hacia longitudes de onda más grandes respecto al triptófano base, además se observa un claro incremento en la intensidad de la emisión de los compuestos denominados Try-1, Try-2, Try-3, y Try-5 respecto a la intensidad del triptófano, llegando a alcanzar hasta una intensidad 5 veces mayor que el triptófano base, por otra parte los compuestos Try-4 y Try-6 presentaron una disminución de su intensidad en la emisión de fotoluminiscencia hasta diez veces menor que la del triptófano inicial.

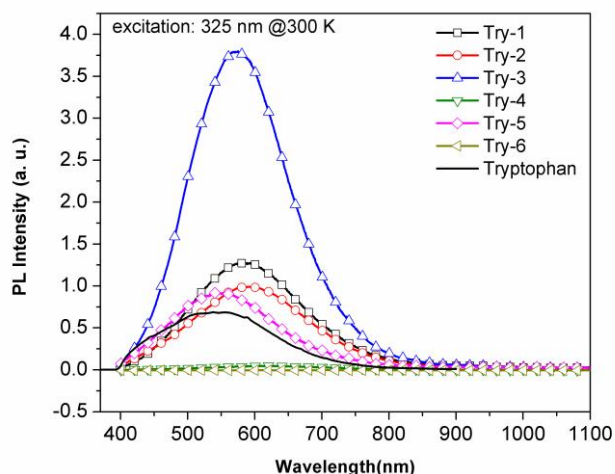


Figura 4. Espectros de Fotoluminiscencia del Triptófano base y los compuestos obtenidos.

CONCLUSIONES

El estudio de difracción de rayos X de polvos del producto Try-3 y el análisis por espectroscopía IR permitieron elucidar la formación de una nueva fase cristalina. Este nuevo compuesto mostró un incremento en intensidad de fotoluminiscencia, hasta 5 veces más que la del triptófano puro, mostrándolo como un compuesto con posibles aplicaciones en OLEDs.

El análisis de la caracterización de los otros 5 derivados del triptófano sugiere que, sí hubo una interacción entre las materias primas, modificando el arreglo cristalino del triptófano, lo cual permitió también la modificación en la intensidad y longitud de onda de la fotoluminiscencia del mismo.

El siguiente paso será buscar las condiciones óptimas para la preparación de los monocristales por evaporación lenta del disolvente. La obtención de los monocristales nos permitirá realizar el estudio de DRX de monocristal y explicar las propiedades físicas de los mismos.

BIBLIOGRAFÍA

- Grothe, E.; Meekes, H.; Vlieg, E.; ter Horst, J. H.; de Gelder, R. *Cryst. Growth Des.* 2016, *16*, 3237-324.
- a) Yan, D. P.; Evans, D. G. *Mater. Horiz.* 2014, *1*, 46-57; b) Anthony, S. P.; Delaney, C.; Varughese, S.; Wang, L.; Draper, S. M. *Cryst. Eng. Comm.* 2011, *13*, 6706-6711; c) Imai, Y.; Murata, K.; Kawaguchi, K.; Harada, T.; Nakano, Y.; Sato, T.; Fujiki, M.; Kuroda, R.; Masturbara, Y. *Eur. J. Org. Chem.* 2009, 1335-1339; d) Mizobe, Y.; Hinoue, T.; Yamamoto, A.; Hisaki, I.; Miyata, M.; Hasegawa, Y.; Tohnai, N. *Chem. Eur. J.* 2009, *15*, 8175-8184; e) Anthony, S. P.; Varughese, S.; Draper, S. M. *Chem. Commun.* 2009, 7500-7502; f) Nishiguchi, N.; Kinuta, T.; Nakano, Y.; Harada, T.; Tajima, N.; Sato, T.; Fujiki, M.; Kuroda, R.; Matsubara, Y.; Imai, Y. *Chem. - Asian J.*, 2011, *6*, 1092-1098.

3. a) Desiraju, G. R. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1995, *34*, 2311-2327, b) Desiraju, G. R. *J. Chem. Sci.*, 2010, *122*, 667-675.
4. Aitipamula, S.; Banerjee, R.; Bansal, A. K. *Crystal Growth Design*, 2012, *12*, 2147;
5. a) Babu, N. H.; Nangia, A. *Cryst. Growth Des.* 2011, *11*, 2662-2679; b) Félix-Sonda, B. C.; Rivera-Islas, J.; Herrera-Ruiz, D.; Morales-Rojas, H.; Höpfl, H. *Cryst. Growth Des.* 2014, *14*, 1086; c) Sánchez-Guadarrama, O.; Mendoza-Navarro, F.; Cedillo-Cruz, A.; Jung-Cook, H.; Arenas-García, J. I.; Delgado-Díaz, A.; Herrera-Ruiz, D.; Morales-Rojas, H.; Höpfl, H. *Cryst. Growth Des.* 2016, *16*, 307.
6. Wong, M. S.; Pan, F.; Bosch, M.; Spreiter, R.; Bosshard, C.; Gunter, P.; Gramlich, V. *J. Opt. Soc. Am. B*, 1998, *15*, 426-431.
7. a) Luo, L.; Wilhelm, C.; Sun, A. W.; Grey, C. P.; Lauher, J. W.; Goroff, N. S. *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, *130*, 7702-7709; b) Fan, G.; Yan, D. *Sci. Rep.*, 2014, *4*, 4933.
8. a) Jiang, M. H.; Fang, Q. *Adv. Mater.* 1999, *11*, 1147-1151; b) Yang, Z.; Mutter, L.; Stillhart, M.; Ruiz, B.; Aravazhi, S.; Jazbinsek, M.; Schneider, A.; Gramlich, V.; Guenter, P. *Adv. Funct. Mater.* 2007, *17*, 2018-2023; c) Yan, D.; Delori, A.; Lloyd, G. O.; Friscic, T.; Day, G. M.; Jones, W.; Lu, J.; Wei, M.; Evans, D. G.; Duan, X. *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2011, *50*, 12483-12486.
9. Shevchenko, A.; Bimbo, L. M.; Miroshnyk, I.; Haarala, J.; Jelinkova, K.; Syrjanen, K.; van Veen, B.; Kiesvaara, J.; Santos, H. A.; Yliruusi, J. *Int. J. Pharm.* 2012, *436*, 403-409.
10. Song, J. X.; Yan, Y.; Yao, J.; Chen, J. M.; Lu, T. B. *Cryst. Growth Des.* 2014, *14*, 3069-3077.
11. a) Beljonne, D.; Wenseleers, W.; Zojer, E.; Shuai, Z. G.; Vogel, H.; Pond, S. J. K.; Perry, J. W.; Marder S. R.; Bredas, J. L. *Adv. Funct. Mater.* 2002, *12*, 631-641. b) Moore, A. J.; Bryce, M. R.; Batsanov, A. S.; Green, A.; Howard, J. A. K.; McKervey, M. A.; McGuigan, P.; Ledoux, I.; Orti, E.; Viruela, R.; Viruela, P. M.; Tarbit, B. *J. Mater. Chem.* 1998, *8*, 1173-1184.
12. Newman, C. R.; Frisbie, C. D.; da Silva, D. A.; Bredas, J. L.; Ewbank, P. C.; Mann, K. R. *Chem. Mater.* 2004, *16*, 4436-4451.
13. Su, M.-S.; Kuo, C.-Y.; Yuan, M.-C.; Jeng, U. S.; Su, C.-J.; Wei, K.-H. *Adv. Mater.* 2011, *23*, 3315-3319.
14. Min, Y. L.; Zheng, F. C.; Chen, Y. C.; Zhang, Y. *J. Mater. Sci: Mater Electron* 2012, *23*, 1116-1121.
15. Mohamed, M. P.; Jayaprakash, P.; Nageshwari, M.; Kumari, C. R. T.; Sangeetha, P.; Sudha, S.; Mani, G.; Caroline, M. L. *J. Molecular Struct.* 2017, *1141*, 551-562.
16. Yadavab, R. S.; Mishraab, P.; Mishraab, R.; Kumarab, M.; Pandeya, A. C. *J. Exp. Nanoscience* 2010, *5*, 348-356.

AVANCES EN EL CICLO REPRODUCTIVO DE *ECHINOMETRA VANBRUNTI* (ECHINODERMATA: ECHINOIDEA) EN BAHÍA ESTELA, SONORA.

Naomi Yerith Reyes Jiménez*, Ana Gloria Villalba Villalba, Amir Maldonado Arce, Darana Gutiérrez Chaires, Reina Castro Longoria, Christian Minjarez Osorio

Universidad de Sonora

RESUMEN

Los erizos son invertebrados marinos, que juegan un papel relevante en los ecosistemas, y son importantes en el mercado por su gónada, utilizada para consumo humano (Olguín Espinoza 2000). Este trabajo tiene como objetivo describir el ciclo reproductivo de *Echinometra vanbrunti* en Bahía Estela, Sonora durante el periodo agosto 2017-agosto 2018. Se colectaron organismos en Bahía Estela, Sonora, mediante buceo, a una profundidad de 1-2 m. Se determinó el índice gonadosomático en base al peso total de cada organismo y el peso fresco de las gónadas. Se realizó histología de las gónadas; se registró la talla y se determinaron parámetros del agua en el punto de muestreo: temperatura, oxígeno disuelto, pH y salinidad. El índice gonadosomático fue de $17.3 \pm 0.04 \%$, $8 \pm 0.06 \%$, $9.23 \pm 3.29 \%$, $8.71 \pm 3.95 \%$, $10.2 \pm 5.56 \%$ y $13 \pm 3.79 \%$ de agosto a enero, respectivamente. La talla promedio fue de 6.56 ± 6.68 cm, 6.55 ± 1.05 cm, 7.0 ± 0.54 cm, 6.4 ± 0.92 cm, 6.5 ± 0.60 cm y 6.6 ± 0.21 cm de agosto a enero, respectivamente. En conclusión, con los datos obtenidos hasta ahora, podría inferirse que el pico de madurez se relaciona con la temperatura, ya que en agosto se observó el mayor índice gonadosomático. El trabajo se encuentra en proceso para obtener el pico de madurez sexual de esta especie durante el año.

INTRODUCCIÓN

Los erizos son un grupo de invertebrados marinos que forman parte de la epifauna del bento y pertenecen a la clase Echinoidea del phylum Echinodermata. En su mayoría juegan un papel importante en los ecosistemas marinos ya que son uno de los principales consumidores herbívoros en los litorales y frecuentemente determinan la estructura de las comunidades a las que pertenecen (Meidel y Scheibling 1998, Olguín Espinoza 2000, Lawrence 2001). Además del papel ecológico que desempeñan los erizos son altamente apreciados en el mercado por sus gónadas que son utilizadas para consumo humano principalmente en Japón y Francia (Olguín Espinoza 2000).

Dentro del conocimiento básico de las especies la reproducción resulta ser una de las áreas más importantes a estudiar ya que mediante este proceso se hace posible la propagación de la especie teniendo repercusiones en su conservación y en el mantenimiento del equilibrio del ecosistema al que pertenece además de ser un factor importante en la disponibilidad de la biomasa para aprovechamiento comercial (García-Cuellar 2001).

La industrialización de las artes de pesca, la fabricación de buques factoría y la aplicación de las nuevas tecnologías como la sonda, han dotado al ser humano de una capacidad extractiva sin precedentes, capacidad a la que el hombre no se ha sabido adaptar, manteniendo las antiguas costumbres de extraer el máximo posible del recurso, sin preocuparse por su carácter finito. Como consecuencia de esta sobrepesca la mayor parte de los recursos pesqueros del mundo muestran síntomas de agotamiento, siendo la sobreexplotación de los océanos el principal problema ambiental de los ecosistemas marinos, por encima incluso del cambio climático (González-Irusta 2009).

TEORÍA

EQUINODERMOS

La palabra "Echinodermata" proviene de los vocablos griegos, "echinos" (espina) y "derma" (piel), debido a las estructuras calcáreas espinosas presentes en la piel de estos organismos. Este Phylum ha tenido un gran éxito evolutivo como lo demuestra la descripción de aproximadamente 20,000 fósiles y 6,500 especies actuales encuadradas en cinco clases: Crinoidea, Asteroidea, Ophiuroidea, Echinoidea y Holothuroidea. En México, se han registrado 643 especies de equinodermos, siendo la Clase Ophiuroidea la más rica (197 especies), seguida por la Clase Asteroidea con 185 especies, la Clase Holothuroidea con 113, la Clase Crinoidea con 29 y la Clase Echinoidea con 119 especies (Álvarez-López 2017).

Los erizos de mar han demostrado ser extremadamente importantes debido a su contribución en diferentes disciplinas biológicas, incluyendo fisiología, embriología, bioquímica y genética, en estudios que datan de finales del siglo XIX a principios del siglo XX. Estos estudios proporcionaron un conjunto de conocimientos, que se convirtieron en la base de lo que hoy se conoce en biología celular básica, tales como mitosis, con el primer reporte en cromosomas, fertilización y embriogénesis, con implicaciones muchos más allá de la biología del equinodermo y posteriormente traducido en la biología general y la medicina (Pagano 2017).

Los equinodermos son animales exclusivamente marinos, que se caracterizan por poseer una simetría pentarradial, a veces enmascarada en una simetría bilateral, un esqueleto de carbonato de calcio (calcita) compuesto por placas intradérmicas independientes y articuladas o espículas calcáreas, y un sistema vascular acuífero único que regula la alimentación, locomoción y otras funciones. Básicamente se componen de una boca, un tubo intestinal (sistema digestivo), gónadas (sistema reproductor), un sistema nervioso primitivo y sistema circulatorio hemal (Álvarez-López 2017).

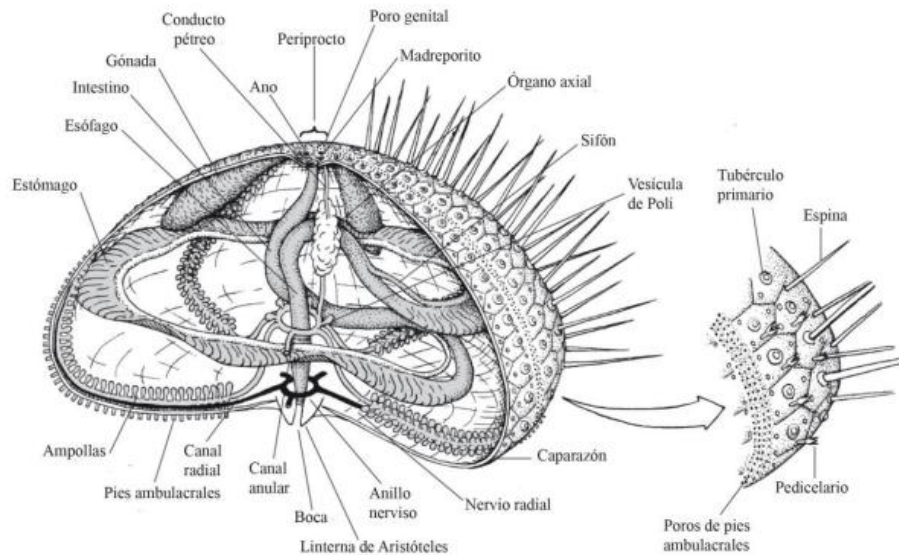


Figura 1. Anatomía Interna de un erizo de mar común.

Se ha observado que los ciclos reproductivos en las especies de erizos que se distribuyen en las zonas templadas presentan épocas de desove anuales bien marcadas, mientras que en las especies tropicales suelen presentar desoves continuos durante gran parte del año (Luna 2000). Además del interés comercial, se conoce que los erizos representan un componente importante de la biomasa béntica y de la productividad secundaria marina (Ríos-Jara et al. 2013), por lo que generar información acerca de su biología reproductiva resulta indispensable para conocer más acerca de su dinámica poblacional (Álvarez-López 2017).

Sobre su biología reproductiva, en México únicamente existe el trabajo de González-Peláez (2001) en Punta Arena de la Ventana B.C.S., quien reporta para esa localidad que *T. depressus* presenta un solo período de desove al año durante los meses de verano, mientras que en Islote Caamaño, Ecuador, presenta entre dos y tres períodos de desove al año (Luna 2000).

Para otras especies dentro del Golfo de California se tiene registro del trabajo de Lara-Rueda (2004) quien describió el ciclo gametogénico del erizo *Echinometra vanbrunti* en Ensenada de Muertos, Baja California Sur. Describió seis estadios gonádicos para *E. vanbrunti* y concluyó que su época de reproducción va de agosto a octubre, con mayor actividad reproductiva durante septiembre. Observó una correlación positiva entre la temperatura y el ciclo gonádico (Álvarez-López 2017). Debido a lo anterior, existe interés en la posibilidad de explotar nuevas especies, sin embargo, la mayoría de los trabajos han sido orientados hacia la generación de tecnologías para su cultivo, como la fertilización

de óvulos a diferentes salinidades (López-Ortiz y Sánchez 2009) dejando de lado los ciclos reproductivos (Álvarez-López 2017).

GAMETOGÉNESIS

El ciclo gametogénico es un proceso de eventos repetitivos que ocurre dentro de la gónada a lo largo del tiempo y tiene la finalidad de formar gametos. Dichos eventos se presentan tanto en hembras como en machos y están divididos en tres etapas:

1. Proliferación donde las células germinales primordiales ovogonias y espermatogonias aumentan en número mediante mitosis.

2. Crecimiento, es un proceso generalmente largo donde existe para el caso de las hembras un aumento del tamaño original del ovocito, provocado en parte por el proceso de vitelogénesis. En esta etapa se inicia la meiosis deteniéndose en el estadio diploteno de la Profase 1, para el caso de los machos el proceso meiótico se completa con la reducción citoplásmica en el espermatocito (Lara-Rueda 2004).

3. Maduración es el proceso donde termina la formación de los gametos óvulo y espermatozoide. Los óvulos están listos para la reactivación de la meiosis con la emisión de los cuerpos polares, el rompimiento de la vesícula germinativa y la formación del huso mitótico; mientras que en los espermatocitos ocurre una metamorfosis, la condensación del núcleo la formación del acrosoma y la eliminación de la mayor parte del citoplasma (Figuras 2 y 3) (Lara-Rueda 2004).

La gametogénesis en erizos de mar generalmente sigue un conjunto de etapas de maduración secuencial y se caracteriza por cambios estacionales en la masa de gónadas en relación con la masa corporal total. Los procesos subyacentes a estas etapas implican la interacción de dos poblaciones celulares: fagocitos nutritivos somáticos (PN) y células germinales. Al inicio de cada ciclo reproductivo, las gónadas de ambos sexos aumentan de tamaño debido a un gran almacenamiento intragonadal de nutrientes por NP. Durante la vitelogénesis, estos nutrientes se transfieren a las células germinales en desarrollo a medida que estas se agrandan y aumentan en números. Los gametos maduros se almacenan en las gónadas hasta la difusión en el desove.

REPRODUCCIÓN

Los factores que controlan la reproducción en los invertebrados marinos tienen dos componentes: los endógenos actividad hormonal y los exógenos fotoperíodo disponibilidad de alimento densidad de las poblaciones y temperatura provocando que las poblaciones presenten desoves anuales mensuales sincrónicos o asincrónicos. Dentro del componente exógeno la temperatura es un factor determinante en la reproducción se conoce que en latitudes bajas los organismos tienden a presentar desoves durante todo el año y en latitudes altas desoves anuales. Sin embargo existen organismos que no siguen ese patrón por lo que la relación entre los parámetros ambientales y el ciclo reproductivo permanece un tanto incierta (Lara-Rueda 2004). La periodicidad reproductiva entre los invertebrados marinos se sincroniza en un desove intraespecífico y maximiza la supervivencia de larvas planctónicas y/o etapas posteriores al asentamiento al exponerlas a las condiciones más favorables del año para el crecimiento y desarrollo. Sin embargo, los factores estacionales que controlan la periodicidad reproductiva pueden ser difíciles de precisar, y sus efectos a veces están sujetos a interpretación.

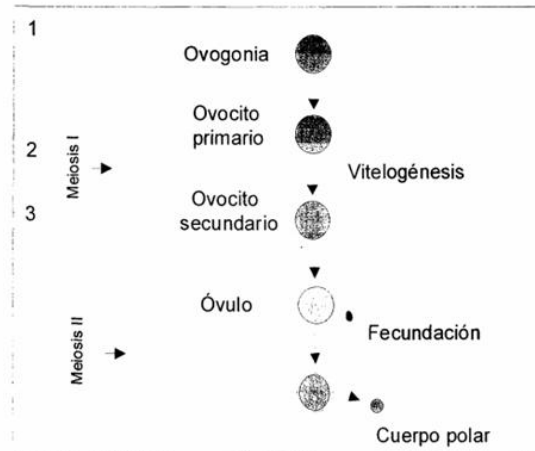


Figura 2. Etapas de la ovogénesis. (1) Proliferación, las células germinales primordiales (ovogonias) aumentan en número. (2) Crecimiento, existe un aumento del tamaño del ovocito por la vitelogénesis e inicia la meiosis deteniéndose en la Profase I. (3) Maduración, donde termina la formación del óvulo y está listo para la reactivación de la meiosis.

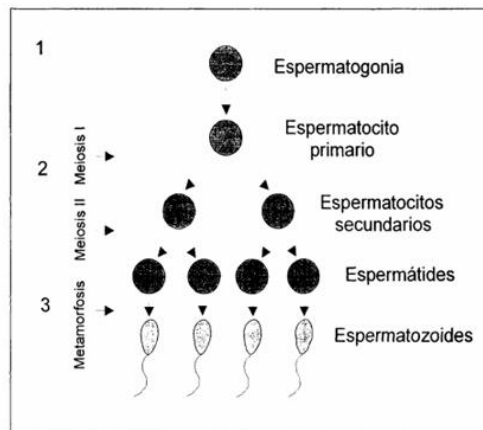


Figura 3. Etapas de la espermatogénesis. (1) Proliferación, las células germinales primordiales (espermatogonias) aumentan en número. (2) Crecimiento, donde el proceso meiótico se completa. (3) Maduración, donde ocurre la metamorfosis del espermatocito secundario a espermatozoide.

Se sabe que algunos erizos de mar se reproducen continuamente durante todo el año, mientras que el desove entre otros tiende restringirse a ciertos meses. Los parámetros ambientales pueden controlar el erizo de mar en cuanto a su periodicidad reproductiva, y la evidencia de la influencia del medio ambiente se ha encontrado en poblaciones polares y ecosistemas templados, a los trópicos (Hernández et al. 2011). Los primeros estudios infirieron que los invertebrados marinos en ambientes tropicales, tipificados por el medio ambiente en constantes condiciones, aparecerían continuamente durante todo el año, mientras que aquellos de áreas templadas, mostrarían estacionalmente patrones restringidos de desove. Sin embargo, esta regla general ha sido refutada por un creciente cuerpo de evidencia para sugerir que las reproducciones de las especies tropicales también están relacionadas con eventos estacionales. Por ejemplo, Lessios (1981) mostró que las poblaciones estrechamente relacionadas de equinoideos tropicales que se encuentran por separado en ambientes (Panamá: costas del Atlántico y del Pacífico) difieren en su grado de estacionalidad reproductiva (Hernández et al. 2011).

GENERALIDADES DE ECHINOMETRA VANBRUNTI

Echinometra vanbrunti del Phylum Echinodermata, pertenece a la Clase Echinoidea, Subclase Regularia, donde se agrupan todos los erizos regulares. Es una especie bentónica que habita el intermareal rocoso y aguas someras, generalmente a una profundidad no mayor a los 3 metros, donde se adhiere fuertemente al sustrato y excava agujeros en corales o rocas basálticas. Su rango de distribución va desde la parte central de California hasta el sur del Perú incluyendo las islas Galápagos (González-Peláez 2004). Los erizos de mar son un componente importante en los ecosistemas marinos bentónicos, su efecto al alimentarse de las macroalgas llega a ser tal que incluso controlan ecosistemas completos cuando sus poblaciones alcanzan altas densidades. Para algunas especies de invertebrados su efecto resulta ser benéfico, ya que colonizan los espacios del sustrato que limpian los erizos al alimentarse, además de hallar protección bajo sus espinas. (González-Peláez 2004).

Se conoce muy poco acerca de *E. vanbrunti* en especial acerca de su biología reproductiva y ecología. El único estudio disponible en la literatura sobre la biología reproductiva de esta especie es el de (Lessios 1981) quien describió que *E. vanbrunti* de las costas de Panamá presenta un ciclo de reproducción anual bien definido con máximos en el tamaño gonadal en el mes de septiembre. En México los estudios sobre esta especie se limitan a la descripción de su morfología y su distribución Geográfica (Lara-Rueda 2004).

JUSTIFICACIÓN

Debido al interés que existe a nivel mundial en la explotación comercial de equinodermos en especial de los erizos y a la disminución de sus poblaciones en el medio natural debida a esta actividad se hace necesario realizar estudios que permitan entender la biología y aspectos ecológicos de estos organismos (Lara-Rueda 2004). En la actualidad no se encuentra descrito el ciclo reproductivo para *E. vanbrunti* que habita en el estado de Sonora, por lo que este trabajo es de vital importancia para el estudio de su biología y así sentar las bases para su posible explotación económica.

OBJETIVO

Describir el ciclo reproductivo de *Echinometra vanbrunti* en Bahía Esthela, Sonora durante el periodo agosto 2017 – agosto 2018.

Objetivos específicos

- Describir el ciclo reproductivo de *Echinometra vanbrunti* en relación a la temperatura del agua durante un año.
- Obtener el índice gonadosomático de *Echinometra vanbrunti* durante un año.
- Determinar la proporción de sexos.
- Determinar el pico de madurez sexual de *Echinometra vanbrunti* respecto a su histología.

PARTE EXPERIMENTAL

Colecta de organismos

Los organismos fueron colectados en Bahía Esthela, Sonora ubicada a 28°49'22"N 111°56'27"O, mediante buceo, a una profundidad de 1-2 metros en la zona intermareal. Se realizó un muestreo mensual y se colectaron entre 20 y 30 organismos. Estos fueron transportados en una hielera con hielo, al laboratorio del Departamento de Física, en la Universidad de Sonora. Se determinaron los parámetros del agua en el punto de muestreo tales como temperatura, oxígeno disuelto, pH y salinidad con un oxímetro.

Procesamiento de las muestras

Se colocaron los organismos en una mesa y se numeraron. Después se midió la longitud de la testa con ayuda de un vernier. Se registró el peso total de los organismos y se obtuvo el promedio de pesos en gramos y tallas en centímetros. Para estimular la liberación de gametos, se inyectó al erizo 0,5 ml de KCl a una concentración de 0.5 M. Después de 10 minutos se realizó la extracción de esperma. Con una pipeta Pasteur se le agregó 0.5 mL de agua de mar filtrada a 22 μ m y se realizó la extracción de esperma mediante succión con la pipeta. En cuanto a los óvulos se realizó el mismo procedimiento con la diferencia de que al momento de la liberación de gametos se colocó boca arriba sobre un frasco de 250 ml, con agua de mar filtrada a 22 μ m.

Se realizó un corte transversal en el erizo con un kit de disección y se extrajo la gónada utilizando una sonda acanalada. Se pesó en una báscula y se obtuvo el índice gonadosomático para describir la variación del peso de las gónadas con respecto al peso total del cuerpo de los organismos a lo largo del ciclo anual, para ello se utilizó la fórmula siguiente:

$$\text{IGS} = (\text{PG}/\text{PT}) * 100$$

Donde:

IGS=Índice Gonadosomático

PG= Peso total de la gónada

PT= Peso total del organismo

Se tomó una pequeña muestra de gónada de cada erizo y se guardó en casetes para histología, previamente etiquetados. El restante almacenó en bolsas de plástico herméticas, dentro de un congelador a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Las muestras contenidas en los casetes se conservaron en formaldehído y después en alcohol al 70% para su posterior análisis. Se realizó la Técnica de Deshidratación e Infiltración en parafina para crustáceos, utilizada en el laboratorio de histología del DICTUS. Se llevó a cabo la inclusión en parafina de las muestras. Después se realizó la microtomía con cortes de 0,5 micras. Se llevó a cabo el proceso de Tinción de Hematoxilina y Eosina para crustáceos. Por último, se aplicó resina a la muestra para su conservación y se dejó secar por dos días.

Análisis histológico

Se llevó a cabo la observación de las muestras utilizando el microscopio digital y se tomaron fotografías a 200 μm , para llevar a cabo la identificación de las fases de desarrollo. Estas fueron divididas en cuatro estadios dependiendo del desarrollo de características tales como fagocitos nutritivos, desarrollo de gametos y desarrollo folicular. Los estadios se clasificaron en: 1) Preparación y Regeneración, 2) Desarrollado, 3) Maduro, 4) Desovado.

RESULTADOS

PROMEDIO DE TALLAS

De agosto de 2017 a enero de 2018 respectivamente, los resultados obtenidos del promedio de tallas fueron los siguientes: $6.56 \pm 6.68\text{ cm}$, $6.55 \pm 1.05\text{ cm}$, $7.0 \pm 0.54\text{ cm}$, $6.4 \pm 0.92\text{ cm}$, $6.5 \pm 0.60\text{ cm}$ y $6.6 \pm 0.21\text{ cm}$.

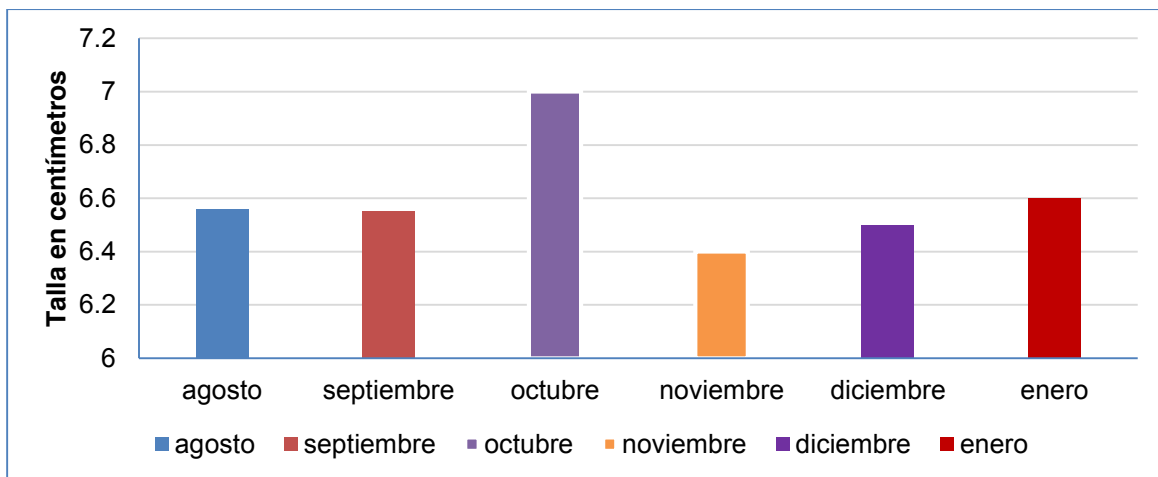


Figura 4. Tallas de *Echinometra vanbrunti* en el periodo agosto 2017 a enero 2018.

ANÁLISIS GONADOSOMÁTICO

El índice gonadosomático obtenido para *Echinometra vanbrunti* en el periodo agosto 2017 a enero 2018, respectivamente fueron los siguientes: $17.3 \pm 0.04\%$, $8 \pm 0.06\%$, $9.23 \pm 3.29\%$, $8.71 \pm 3.95\%$, $10.2 \pm 5.56\%$ y $13 \pm 3.79\%$

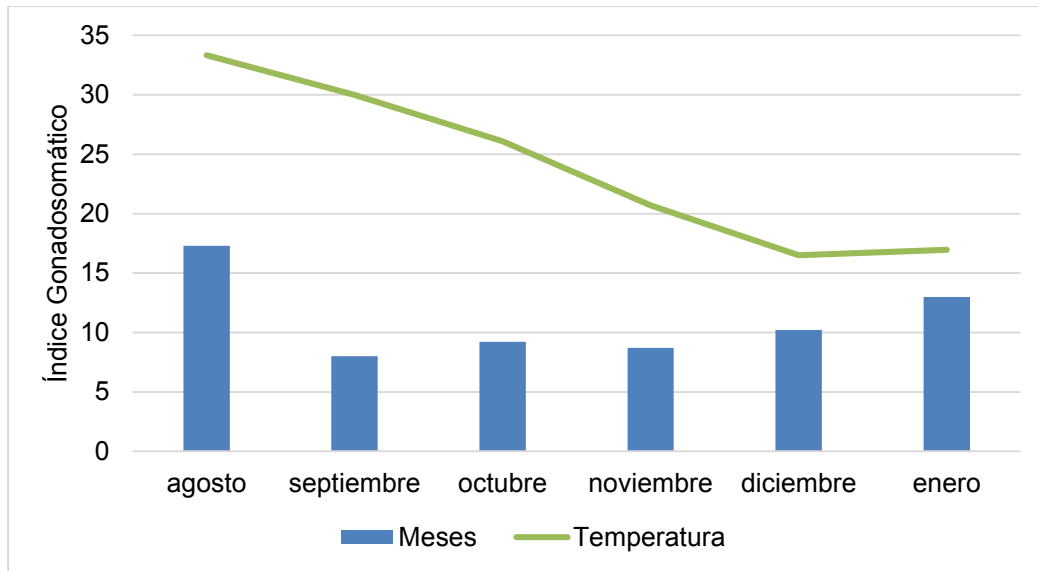
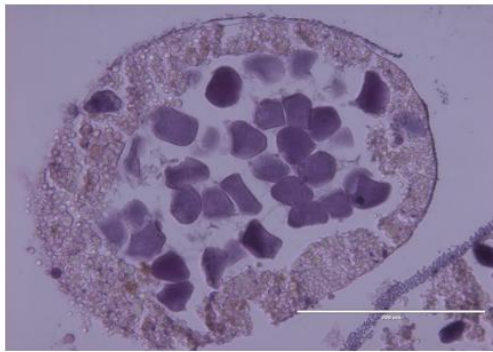


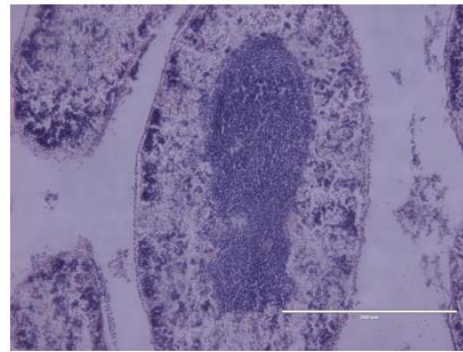
Figura 5. Índice Gonadosomático en el periodo agosto 2017 a enero 2018 en relación con la temperatura del agua registrada.

Se realizó el análisis histológico a las muestras de erizo. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Septiembre



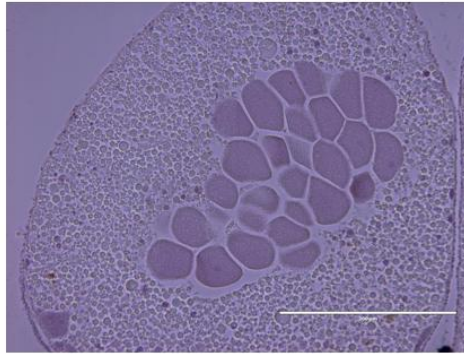
**Gónada de erizo
Hembra a 200 μ m**



**Gónada de erizo
macho a 200 μ m**

Figura 6. Gónada de erizo hembra y macho del mes de septiembre, observadas en microscopio digital a 200 μ m.

Octubre



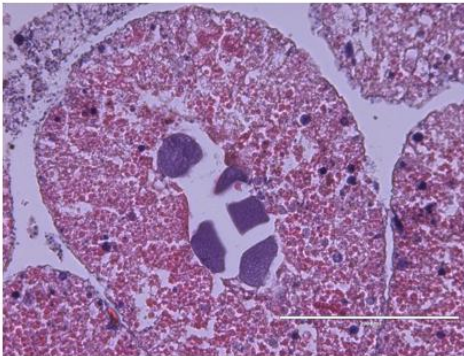
**Gónada de erizo
Hembra a 200 μ m**



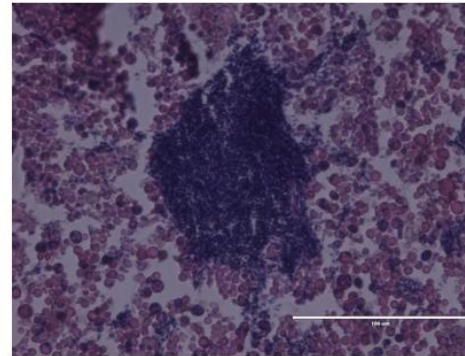
**Gónada de erizo
macho a 200 μ m**

Figura 7. Gónada de erizo hembra y macho del mes de octubre, observadas en microscopio digital a 200 μ m.

Noviembre



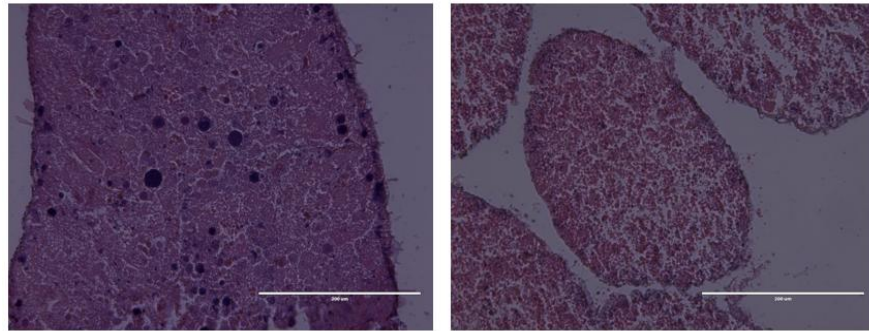
**Gónada de erizo
Hembra a 200 μ m**



**Gónada de erizo
macho a 200 μ m**

Figura 8. Gónada de erizo hembra y macho del mes de septiembre, observadas en microscopio digital a 200 μ m.

Diciembre

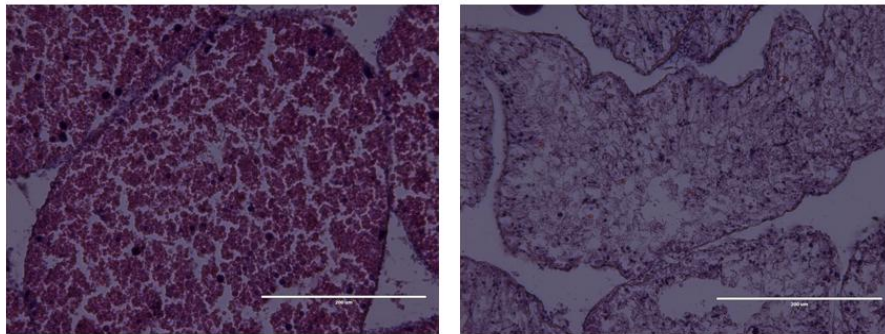


**Gónada de erizo
Hembra a 200 μ m**

**Gónada de erizo
macho a 200 μ m**

Figura 9. Gónada de erizo hembra y macho del mes de diciembre, observadas en microscopio digital a 200 μ m.

Enero



**Gónada de erizo
Hembra a 200 μ m**

**Gónada de erizo
macho a 200 μ m**

Figura 10. Gónada de erizo hembra y macho del mes de enero, observadas en microscopio digital a 200 μ m.

CONCLUSIONES

El ciclo reproductivo de invertebrados marinos se ve afectado por factores endógenos y exógenos. Dentro de los factores exógenos, la temperatura es considerada un factor detonador en el desarrollo gonádico de esta especie, así como los desoves. En conclusión, con los datos obtenidos hasta ahora, podría inferirse que el pico de madurez se relaciona con la temperatura, ya que en agosto se observó el mayor índice gonadosomático y una mayor temperatura. El trabajo se encuentra en proceso para obtener el pico de madurez sexual de esta especie durante el año.

BIBLIOGRAFÍA

1. Álvarez-López, I. K. 2017. Ciclo Reproductivo de *Tripneustes Depressus* (A. Agassiz, 1863) (Echinodermata: Echinoidea) En Punta Arena de la Ventana, Baja California Sur, México. Universidad Autónoma de Baja California Sur.

2. Bronstein, O., Y., Loya. 2013. Photoperiod, temperature, and food availability as drivers of the annual reproductive cycle of the sea urchin *Echinometra* sp. from the Gulf of Aqaba (Red Sea). *Coral Reefs* (2015) 34:275–289
3. Cañedo-López, M., Dreyfus-Leon, Cota-Villavicencio, A. 1999. Aplicación de un modelo bioeconómico a la pesquería del erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* de la costa noroccidental de Baja California México. *Ciencias Marinas* 25 (3): 325-344
4. García-Cuellar, 2001. Ciclo reproductivo de la madreperla *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856) y su relación con los fenómenos El Niño y La Niña (1997-1999) en la Isla Espíritu Santo, Baja California Sur México. Tesis de Maestría. IPN. La Paz B. C. S. México. 68 p. p.
5. González-Irusta, J.M. 2009. Contribución Al Conocimiento Del Erizo De Mar Paracentrotus Lividus (Lamarck, 1816) En El Mar Cantábrico: Ciclo Gonadal Y Dinámica De Poblaciones. Universidad De Cantabria E.T.S. Ingenieros De Caminos, Canales Y Puertos. Dpto. De Ciencias Y Técnicas Del Agua Y Del Medio Ambiente. Area De Ecología
6. González-Peláez, S. 2004. Biología poblacional del erizo *Echinometra vanbrunti* (Echinodermata:Echinoidea) en el sur del Golfo de California, México. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. La Paz, B.C.S.
7. Hernández, J.C., Clementem, S., Brito, A. 2011. Effects of seasonality on the reproductive cycle of *Diadema aff. antillarum* in two contrasting habitats: Implications for the establishment of a sea urchin fishery. *Mar Biol* (2011) 158:2603–2615
8. Lara-Rueda, N. 2004. Ciclo Reproductivo del erizo de mar *Echinometra vanbrunti* (Agassiz, 1863) (Echinodermata:Echinoidea) en Ensenada de Muertos, Baja California Sur, México. Universidad Autónoma de Baja California Sur.
9. Lawrence, J. M. 2001. The edible sea urchins 1-3 p. p. In *Edible sea urchins: Biology and Ecology* Elsevier Science B.V. U. S. A.
10. López-Ortiz, B.E., y Sánchez, A. (2009). Efecto del aumento de salinidad en la fertilización de óvulos de erizos *Strongylocentrotus franciscanus* y *Lytechinus anamesus*. *Hidrobiológica*, 19, 181–184.
11. Luna, S. (2000). Distribución Poblacional y Ciclo Reproductivo del Erizo de Mar Blanco *Tripneustes depressus* (Echinodermata : Echinoidea) en las Islas Galápagos, Tesis de licenciatura Area de Investigaciones Marinas y Conservación Costera de la estación Científica Charles Darwin. Universidad San Francisco de Quito
12. Meidel, S. K., R.E., Scheibling. 1998. Annual reproductive cycle of the green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* in differing habitats in Nova Scotia Canada. *Marine Biology*. 131: 461-478
13. Olguín-Espinoza, I. 2000. Investigación Regional La pesquería de erizo en México. Situación actual y perspectivas de desarrollo. 4 (10) 5- 6
14. Pagano et al. 2017. Sea Urchin Bioassays in Toxicity Testing: I. Inorganics, Organics, Complex Mixtures and Natural Products. *Expert Opinion on Environmental Biology*. 6:1
15. Ríos-Jara, E., y Galván-Villa, C.M., Rodríguez-Zaragoza, F.A., López-Uriarte, D. (2013). Los equinodermos (Echinodermata) de bahía Chamela, Jalisco, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 84, 263–279.

FIABILIDAD DEL PROGRAMA EQUILIBRAR® EN EL DIAGNÓSTICO BIOQUÍMICO DE CASOS REPORTADOS

Ruth Moreno Hernández¹, Marleni Reyes Monreal², Miguel Pérez Escalera², María Eugenia Pérez Bonilla¹ y Arturo Reyes Lazalde¹

¹Facultad de Ciencias Biológicas, ²Escuela de Artes Plásticas y Audiovisuales
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

RESUMEN

Los trastornos ácido-base son desequilibrios causados por una alteración en el balance ácido-base normal, esto hace que el pH sanguíneo se modifique. El pH se considera normal entre 7.35 y 7.45. Ante los desequilibrios se pueden originar respuestas de acidosis y alcalosis respiratoria o metabólica, mixtas; compensadas y no compensadas. Para su diagnóstico es necesario realizar historia clínica y determinación de once parámetros bioquímicos: pH, bicarbonato (HCO_3), presiones de gases sanguíneos (PO_2 y PCO_2), hemoglobina (Hb), sodio (Na^+), cloro (Cl^-), calcio (Ca^{++}), magnesio (Mg^{++}), potasio (K^+), albúmina y fosfato. Se realizó una búsqueda en Internet de casos clínicos con presencia de alteraciones en el pH sanguíneo. Se seleccionaron aquellos que contaban con estudios de laboratorio, diagnóstico y su resolución. Los datos de los estudios de laboratorio fueron ingresados al programa EQUILIBRAR®, desarrollado en el laboratorio y se navegó en sus diferentes módulos: (1) estudio con enfoque fisiológico, basado en Henderson-Hasselbalch, (2) estudio con enfoque de exceso de bases basado en Astrup y Siggaard-Andersen (3) estudio con enfoque fisicoquímico, en el modelo de Steward. Se analizaron 10 casos clínicos con los criterios de inclusión para poder realizar los diferentes enfoques de cálculo. En los casos donde se tenía el pH y HCO_3 se pudo determinar la cantidad de hidrogeniones, calcular PCO_2 teórico y se emitió un posible diagnóstico. Se calculó la brecha aniónica, con otros enfoques se determinó el exceso de base y de iones fuertes. La mayoría de los casos clínicos reportados solo cuentan con datos de laboratorio para hacer un diagnóstico mediante la ecuación de Henderson-Hasselbalch. Sin embargo, en todos los casos, el uso de las herramientas de cálculo que proporciona el programa EQUILIBRAR® generó los mismos resultados: diagnósticos, datos calculados y supuestos similares a los reportados.

INTRODUCCIÓN

Las alteraciones ácido-base son comúnmente encontradas en las unidades de terapia intensiva [1, 2]. Mientras existen cada vez más médicos y cirujanos especializados en un órgano específico; por ejemplo, nefrólogos, cirujanos de tórax o que atienden un proceso infeccioso; en terapia intensiva, se atienden un vasto número de pacientes con enfermedades graves que involucran la interacción de varios órganos. La regulación ácido-base es una de esos procesos donde existe una interacción entre varios órganos [3]. Por esta razón los médicos intensivistas son expertos en diagnosticar y manejar complicadas alteraciones del equilibrio ácido-base [3, 4]. En la práctica clínica, cuando el diagnóstico de los desequilibrios ácido-base de un paciente con alteraciones severas no son apropiados ni corregidas rápidamente, se puede llevar al paciente a la muerte [5]. Para una mejor comprensión se han propuesto tres grupos de alteraciones desde el punto de vista clínico: iatrogénicas, enfermedades preexistentes crónicas y las que se inician durante el proceso de la enfermedad. Por ejemplo, acidosis metabólica hiperclorémica, falla renal crónica ó shock. Tradicionalmente, existen clasificaciones de las alteraciones ácido-base; por ejemplo, alteraciones respiratorias versus metabólicas y acidosis versus alcalosis. Los procesos compensatorios y las alteraciones mixtas pueden dificultar el diagnóstico y en consecuencia el tratamiento [6].

Varios modelos y algoritmos se han implementado con el propósito de evaluar el estado ácido-base. Existen tres diferentes enfoques teóricos con métodos específicos para la cuantificación de desordenes ácido-base: (1) enfoque fisiológico (2) enfoque químico y (3) enfoque fisicoquímico [3, 5]. En estos tres enfoques los mecanismos que explican el componente respiratorio es común; sin embargo, cada uno de ellos difiere en el componente metabólico; y en consecuencia, en sus métodos para su evaluación [3]. El primero, está basado en la concentración de bicarbonato [HCO_3], el segundo en el uso del exceso de base (BE) [7] y el tercero en la diferencia de iones fuertes (SID) [8, 9].

Cada uno de estos enfoques presenta aspectos relevantes. La precisión y utilidad de cada enfoque comparándolos unos con otros, y los métodos que utilizan, ofrecen resultados en esencia iguales con respecto a la cuantificación del estado ácido-base para una muestra sanguínea dada. Esto indica la consistencia que presenta cada uno de estos métodos desde el clásico hasta el más actualizado. Bien utilizados y de manera sistemática son herramientas muy importantes en la práctica clínica. La diferencia entre estos métodos es el enfoque de cómo deben entenderse los mecanismos que generan el equilibrio ácido-base y sus alteraciones [9].

En este trabajo se utilizaron los tres enfoques para el cálculo y diagnóstico de los desequilibrios ácido-base. Para este propósito se puso a prueba el programa Equilibrar® desarrollado en nuestro laboratorio [10].

MATERIAL Y MÉTODO

Se conjuntaron 10 casos clínicos resueltos: cinco reportados por Walmsley y White [11], uno reportado por Tróchez et al. [12], uno reportado por Carrillo-Esper y Visoso-Palacios [13], uno en la página de Internet "Caso-Clinico-Resuelto, dos de la página "Equilibrio ácido-base". Para el análisis de los datos de laboratorio se utilizó el programa Equilibrar® desarrollado en nuestro laboratorio. Según el caso y los datos de laboratorio reportados se utilizó uno de los tres enfoques posibles del menú principal del programa: (1) Enfoque fisiológico, (2) Enfoque exceso de bases y (3) Enfoque fisicoquímico. En todos los casos se comparó el diagnóstico reportado en la literatura con el diagnóstico sugerido por el programa.

RESULTADOS

En seguida se describen cuatro casos clínicos con el uso del programa presentado de forma detallada. Para cada uno de ellos se muestran las ventanas o interfaces utilizadas del programa para el cálculo de algunas variables y obtener un diagnóstico sugerido por el programa. Los seis casos restantes se muestran en una tabla. En todos los casos el uso del programa es similar a los descritos detalladamente.

PRESENTACIÓN DE CASOS

Caso 1

Paciente de 68 años con paro cardiorespiratorio después de cirugía. Se tomó muestra sanguínea arterial 5 minutos después del paro. Los datos de laboratorio fueron: pH = 6.85, H^+ = 141 (nmol/L), PCO_2 = 82 y PO_2 = 21 (mmHg), HCO_3^- = 14 nmol/L, brecha aniónica (AG) = 24, lactato = 12 [11].

Uso del programa

1. Determinación de hidrogeniones.

Se accede al módulo <Enfoque fisiológico>, después a <cálculo de hidrogeniones>, se introduce el pH sanguíneo y se oprime el botón <Calcular>. El valor proporcionado por el programa es de 141 (redondeado) que es el mismo reportado en el caso (Figura 1).

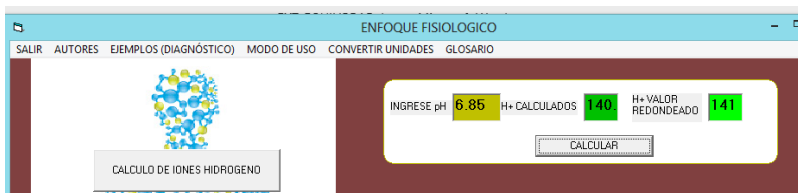


Fig. 1. Cálculo de hidrogeniones. El resultado se obtiene a partir del pH.

2. Determinación de hidrogeniones, bicarbonato y sugerencia de diagnóstico por el programa.

En seguida se procede al cálculo ácido-base utilizando la ecuación de Henderson. Se presenta un nuevo menú con tres opciones: (1) conocemos pH y bicarbonato, (2) conocemos pH y $PaCO_2$, (3) conocemos $PaCO_2$ y bicarbonato. Por ejemplo, seleccionamos la opción 2: ingresamos pH = 6.86 y $PaCO_2$ = 82. Se calcula la concentración de hidrogeniones = 140.7, y la concentración de HCO_3^- = 13.98. El diagnóstico sugerido es una acidosis mixta: metabólica y respiratoria (Figura 2).

Los valores de referencia se encuentran en la pantalla de glosario (Figura 3). En el menú superior de la interfaz de usuario se encuentra <Glosario>, desde ahí se abre glosario (Figura 3). Se observa que el pH es bajo 6.86 (normal 7.42 ± 0.015) indica que se trata de una acidosis. La presión parcial arterial de bióxido de carbono (PaCO_2) está muy elevada 82 mmHg (normal, 38 ± 1.5) implica un problema respiratorio, en este caso es el paro cardiorespiratorio. La concentración de bicarbonato está disminuida $\text{HCO}_3^- = 13.98$ (normal 24.5 ± 0.5), indica una acidosis metabólica como consecuencia de una anoxia tisular que incrementa la concentración de lactato: 12 (normal <2 mEq/L). Se concluye una acidosis mixta. El diagnóstico reportado en la literatura también fue de una acidosis mixta.

Para calcular la brecha aniónica es necesario saber la concentración de Na^+ y de Cl^- ; en este caso no contamos con estos valores.

The screenshot displays a software window titled "ENFOQUE FISIOLÓGICO" with a menu bar containing "SALIR", "AUTORES", "EJEMPLOS (DIAGNÓSTICO)", "MODO DE USO", "CONVERTIR UNIDADES", and "GLOSARIO". The main interface is divided into two panels. The left panel, titled "INTERVALO DE VALORES QUE PUEDE INGRESAR:", lists several calculation modules: "CÁLCULO DE IONES HIDROGENO", "TABLA pH - HIDROGENIONES", "CÁLCULO ACIDO BASE (ECUACIÓN DE HENDERSON)", "CÁLCULO DE BRECHA ANIONICA", and "CÁLCULO DE PROCESOS DE COMPENSACIÓN". The right panel, titled "Conocemos pH y PaCO₂", contains input fields for "Ingreso pH" (6.85, labeled "bajo") and "Ingreso PaCO₂" (82, labeled "alto"), a "CALCULAR" button, and a "REGRESAR" button. Below the input fields, the results are displayed: "[H⁺]" at 140.7 mEq/L and "[HCO₃⁻]" at 13.98 mEq/L (labeled "bajo"). A modal dialog box titled "EQUILAR" is overlaid on the results, displaying the diagnosis "acidemia mixta: metabólica y respiratoria" and an "Aceptar" button. At the bottom left of the interface, a reference range table is visible:

INTERVALO DE VALORES QUE PUEDE INGRESAR:
pH: 6.8 a 8.5
HCO ₃ ⁻ : 5 a 25 mEq/L
PaCO ₂ : 10 a 150 mmHg

Fig. 2. Cálculo de bicarbonato y diagnóstico emitido por el programa. Resultados de paciente después de paro cardiorespiratorio. Diagnóstico: acidosis mixta.

SIGLAS	DEFINICIÓN	VALORES NORMALES
SCO ₂	Dióxido de carbono disuelto	1.2 (mEq/L)
PaCO ₂	Presión arterial de dióxido de carbono	38 ± 1.5 (mmHg)
HCO ₃ ⁻	Bicarbonato	24.5 ± 0.5 (mmol/L) ó (mEq/L)
H ₂ CO ₃	Ácido carbónico	
H ⁺	Hidrogeniones	40 (nmol/L)
pH	Potencial de hidrógeno	7.422 ± 0.015
A ⁺	Cationes	
A ⁻	Concentración de ácidos débiles no carbónicos disociados (Albúmina y Fosfato)	
Na ⁺	Ión sodio	142 ± 2 (mmol/L) ó (mEq/L)
K ⁺	Ión potasio	4.1 ± 0.3 (mmol/L) ó (mEq/L)
Ca ²⁺	Ión calcio	2.3 ± 0.1 (mmol/L) = 4.6 (mEq/L)
Mg ²⁺	Ión magnesio	0.8 ± 0.05 (mmol/L) = 1.6 (mEq/L)
Cl ⁻	Ión cloro	106 ± 2 (mmol/L) ó (mEq/L)
Alb	Albúmina	44 ± 3 (g/L) = 4.4 ± 0.03 (g/dL)
PI	Fosfato inorgánico	1 ± 0.2 (mmol/L) = 3.097 ± 0.6 mg/dL
Lactato ⁻	Lactato	< 2 (mEq/L)
AG (BA)	Brecha aniónica	16 ± 2 (mmol/L) ó (mEq/L)
ΔAG (ΔBA)	Delta de la brecha aniónica	
Δ[HCO ₃ ⁻]	Delta de bicarbonato	
ΔAG/Δ[HCO ₃ ⁻]	Relación de deltas	1:1
[A ⁻] _{TOT}	Concentración de ácidos débiles totales	15 (mmol/L)
SIG	Brecha de iones fuertes	0 (mEq/L)
[SID] ⁺ _a	Diferencia de iones fuertes aparente	38 a 42 (mmol/L) ó (mEq/L)
[SID] ⁺ _e	Diferencia de iones fuertes efectiva	38 a 42 (mmol/L) ó (mEq/L)
BE	Exceso de base	0 ± 2 (mEq/L) ó (mmol/L)
BE _e	Exceso de base corregido	(mEq/L)
SBE	Exceso de base estandar	0 ± 3 (mEq/L)
UA ⁻	Aniones fuertes no medidos	8 ± 2 (mmol/L)
Hgb	Hemoglobina	15 g/dL = 9.3 (mmol/L)
ABG	Gases sanguíneos arteriales	

Fig. 3. Ventana de Glosario. Aquí se muestran las abreviaciones, qué significan y los valores de referencia. En todo momento el usuario tiene acceso a ellos.

Caso 2

Paciente de 71 años de edad que se presenta con uropatía obstructiva producto de cáncer en la próstata. Los valores de laboratorio son: pH = 7.58, H⁺ = 26, PCO₂ = 21, PO₂ = 154, HCO₃⁻ = 19. En plasma: Na⁺ = 127, K⁺ = 5.2, Cl⁻ = 79, HCO₃⁻ = 20, Urea = 50.5, creatinina = 0.38, AG = 25 [11].

Uso del programa

Determinación de la brecha iónica (AG) y posible diagnóstico.

Se ingresa al módulo <Enfoque fisiológico>. En esta pantalla se encuentra el menú: cálculo de hidrogeniones, Tabla de pH-hidrogeniones, cálculo ácido-base Ecuación de Henderson, cálculo de brecha aniónica, cálculo de procesos de compensación. Se ingresa a <Cálculo de brecha aniónica>. Aparece la interfaz de usuario mostrada en la figura 4. Se ingresan los datos de Na⁺, Cl⁻ y bicarbonato. La brecha aniónica AG fue de 29. De abajo, se encuentra un recuadro para ingresar AG reportado en el laboratorio, el calculado y el bicarbonato y se obtiene la relación ΔAG/ΔHCO₃ que fue de -0.8.

En el menú superior de la pantalla se encuentra la opción <Valores AG>. Cuando se selecciona esta opción se abre una ventana que muestra los valores de AG reportada por diferentes autores y en seguida se ofrece una explicación de qué pasa en casos de aumento o disminución de esta variable. En este caso se encuentra un valor aumentado de AG = 29 (normal promedio 11 ± 2.5) y una disminución de PaCO₂ = 21 (normal 38 ± 1.5) indicativo de una alcalosis respiratoria (Figura 5).

Fig. 4. Cálculo de la brecha aniónica a partir de bicarbonato, cloro y sodio. Se obtuvo un valor de AG aumentado.

VALORES PROMEDIO AG (mEq/L)	INTERVALO AG	FUENTE
11 ± 2.5	6 a 16	Frohlich et al. 1976
15 ± 2.5	10 a 20	Buckley et al. 1973
12 ± 4	8 a 16	Paulson et al. 1998
6 ± 3		Kraut et al. 2007
12 ± 4	con K ⁺	Pramod et al. 2010
8 ± 4	sin K ⁺	Pramod et al. 2010

Las grandes variaciones en estos valores dependen de la técnica empleada para su medición. Por esta razón es que se debe considerar siempre el valor de referencia del laboratorio particular que realiza la prueba.

Valores bajos en la brecha aniónica (AG) son muy raros y generalmente son indicativos de errores de laboratorio o intoxicación muy rara por bromuros. Actualmente, cuando se reportan valores como estos, se prefiere repetir la prueba de laboratorio.

Valores en altos pueden indicar acidosis metabólica por sobreproducción o disminución de secreción de ácido.

Un incremento de AG con una marcada reducción de PaCO₂ es indicativo de alcalosis respiratoria.

Una disminución de volumen severa (hiperalbulinemia) incrementa AG.

También se aumenta AG en hiperfosfatemia severa y por errores de laboratorio.

Fig. 5. Interfaz que muestra los valores promedio normales de AG y una explicación clínica de los cambios en esta variable. En el caso presentado alcalosis respiratoria.

En seguida se selecciona <Enfoque fisiológico>, se ingresa el pH = 7.58, PaCO₂ = 21; el valor calculado de bicarbonato fue de 18.72 (el reportado fue de 19). El diagnóstico sugerido por el programan fue: alcalosis respiratoria parcialmente compensada.

Con la ecuación de Henderson-Hasselbalch se calcula el pH. Para esto se selecciona <Cálculo ácido-base Ecuación de Henderson> y después se selecciona <Conocemos PaCO₂ y HCO₃⁻> el pH calculado fue de 7.57 y la gráfica muestra una acidosis respiratoria aguda (Figura 6). En consecuencia se está ante un caso de alcalosis respiratoria aguda y parcialmente compensada.

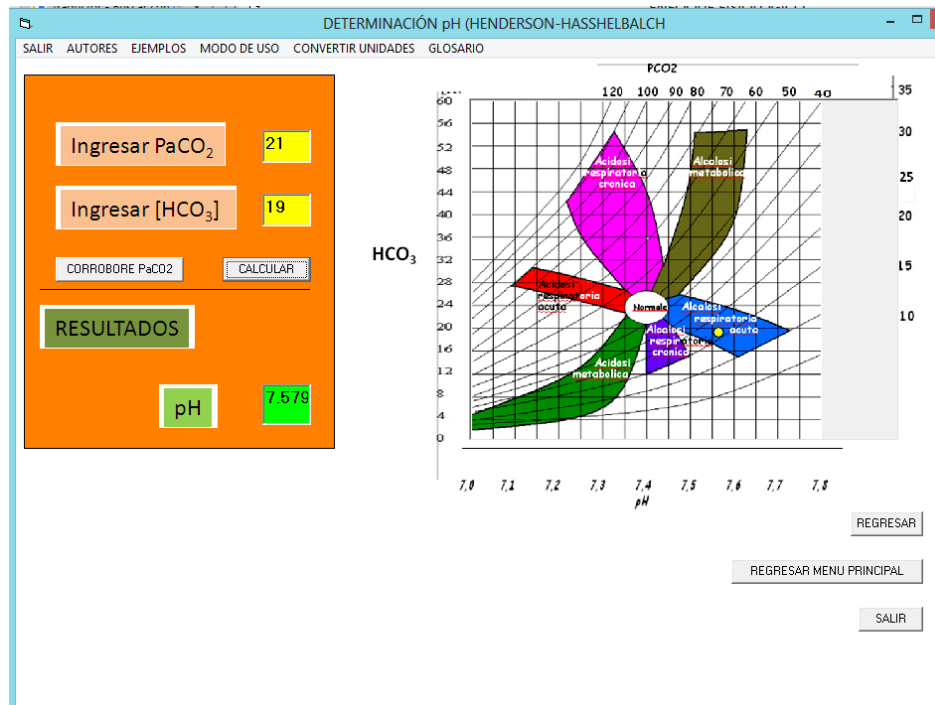


Fig.6. Determinación del trastorno ácido-base a partir de la presión parcial de CO₂ y la concentración de bicarbonato. El pH calculado fue de 7.57 y el resultado en la gráfica indica una alcalosis respiratoria aguda.

Caso 3

Mujer de 79 años con cuadro clínico de abdomen agudo por hernia abdominal encarcelada, se realiza herniorrafia umbilical y crural derecha; durante el procedimiento encontraron hernia inguinal estrangulada con 5 cm de necrosis de íleon. Además se presentó regurgitación de contenido gástrico. La paciente evoluciona tópidamente con dificultad respiratoria progresiva y bronco espasmo. Se requiere ventilación y monitoreo intensivo. Los datos de laboratorio son: pH = 6.8, PCO₂ = 34.5, PO₂ = 48.2, K⁺ = 4.5, Na⁺ = 148, Ca⁺⁺ = 0.8, Cl⁻ = 130, HCO₃⁻ = 5.1, lactato = 21 (mmo/L), Hb = 9.2 (g/L). Diagnóstico acidosis severa metabólica descompensada asociada a una acidosis láctica [12].

De acuerdo a los datos reportados, se puede utilizar el enfoque <Exceso de Bases>. Los resultados muestran un exceso de base de -28.8 y exceso de bases estándar de -26.1 (Figura 7).

No es posible usar el enfoque "Fisicoquímico" de manera directa porque faltan datos de albumina, fosfato y Mg²⁺. Como un ejemplo de uso de este enfoque, se agregaron valores normales para estas variables: Albúmina = 44, fosfato = 1.1 y Mg²⁺ = 0.8. Los cálculos con el Modelo de Stewart fueron: pH = 6.9, PCO₂ = 34, Diferencia de iones fuertes aparente (SID_a) = 17.81 (mmol/L) (normal, 38 a 42); Diferencia de iones fuertes efectiva (SID_e) = 18.06 (mmol/L) (normal, 38 a 42); Concentración de ácidos débiles totales (Atot) = 10.16 (mmol/L) (normal, 15); HCO₃⁻ = 7.6 (mmol/L) (normal, 24.5 ± 0.5), Brecha aniónica (AG) = 10.8 (mmol/L) (normal, 16 ± 2); Brecha de iones fuertes (SIG) = 1.35 (mEq/L) (normal, 0); Exceso de base estándar (SBE) = -23.6 (mEq/L) (normal, 0 ± 3) (Figura 8).

ALIR AUTORES CONVERTIR UNIDADES GLOSARIO AYUDA

ECUACIÓN DE VAN SLYKE

Ingreso $[\text{HCO}_3^-]$ 5.1 mmol/L

Ingreso [Hb] 9.2 mmol/L

Ingreso pH 6.8

CALCULAR

RESULTADO

EXCESO DE BASE

BE -28.8 mmol/L

EXCESO DE BASE ESTANDAR

SBE -26.1 mmol/L

Fig. 7. Módulo para el cálculo de exceso de bases. Se observa una acidosis metabólica.

ENFOQUE FÍSICO-QUÍMICO

SALIR AUTORES MODO DE USO EJEMPLOS REPASO TEMÁTICO CONVERTIR UNIDADES GLOSARIO

INGRESE DATOS

PCO_2 34 mmHg

albúmina 44 g/L

fosfato 1.1 mmol/L

lactato 21 mmol/L

RESULTADOS

pH 6.974

PCO_2 34 mmHg

SID_a 17.81 mEq/L

SID_e 18.05 mEq/L

A_{Tot} 10.16 mmol/L

HCO_3^- 7.641 mEq/L

AG 10.80 mEq/L

AGc 1.843 mEq/L

SIG 1.353 mEq/L

SBE -23.60 mEq/L

CALCULAR

REGRESAR A MENÚ PRINCIPAL SALIR

INGRESE DATOS

Cl- 130 mEq/L

Ca $^{2+}$ 0.8 Mg $^{2+}$ 0.8 UA- 8 mEq/L

Na $^{+}$ 148 mEq/L

K $^{+}$ 4.5 mEq/L

CALCULAR UA-

Fig. 8. Cálculo de trastorno ácido-base usando el Modelo de Stewart. Se muestra una acidosis de tipo metabólica. La disminución en la diferencia de iones fuertes aparente y efectiva indica un aumento de H^+ y una disminución del pH.

Caso 4

Paciente de 53 años sometida a histerectomía subtotal abdominal bajo anestesia mixta. En el transoperatorio presentó sangrado profuso de 3 litros y choque hipovolémico por lesión de las

arterias cervicovaginal izquierda y uterosaca derecha. Se realizó control quirúrgico de los vasos sangrantes y tratamiento médico volémico. Los datos de laboratorio en el transoperatorio fueron: Na^+ = 138, K^+ = 4.5, Cl^- = 110 (mEq/L), Mg^{2+} = 1.5, Ca^{2+} = 7, Fosforo = 3.1 (mg/dL), Lactato 0 2, pH = 7.23, PCO_2 = 31, PO_2 = 230 (mmHg), HCO_3^- = 20 (mmol/L), BE = -5 (mmol/L), Albúmina = 2.2 (mg/L), SID = 32 [13].

Se utilizó el enfoque <Físicoquímico>. Se ingresaron los valores reportados y se realizó el cálculo. Se advierte que el programa solo deja ingresar valores de fosfato hasta 2. La paciente tenía 3.1 (mg/dL). En consecuencia los valores de salida son aproximados: pH = 7.5, SIDa = 28.5 –vs- 32 reportado; SIDe = 29, Atol = 0.97, HCO_3^- = 27.6 –vs- 20 reportado, AG = 0.92, AGc = 0.22, SIG = 0.71, SBE = 3.73 –vs- -5 reportado. Probablemente la diferencia en valores se deba al límite de fosfato dado por el programa. Sin embargo, el diagnóstico corresponde a una acidosis metabólica severa. El diagnóstico reportado fue de una acidosis metabólica hiperclorémica (Figura 9).

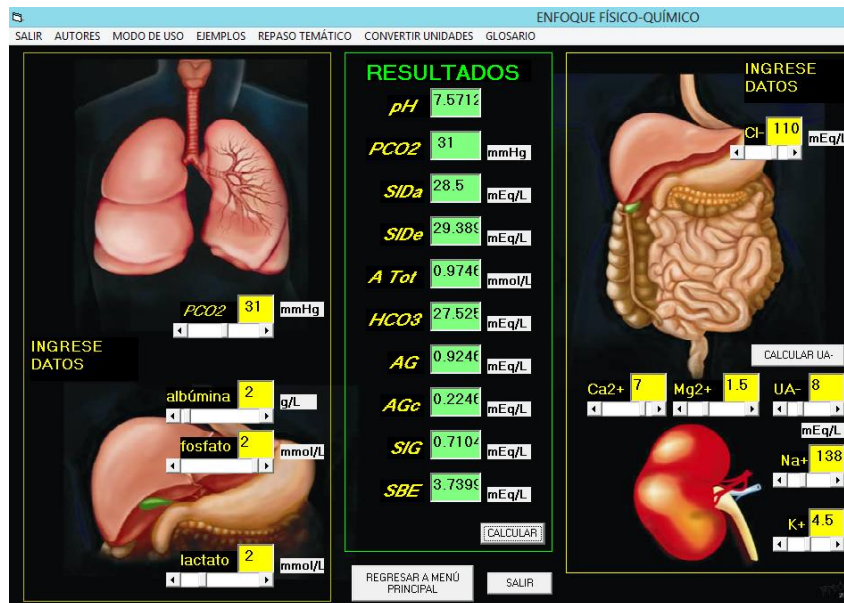


Fig. 9. Cálculo de una acidosis metabólica con el Modelo de Stewart.

En seguida se describen brevemente los casos restantes. Los datos de laboratorio, los cálculos y el diagnóstico sugerido por el programa se enlistan en la Tabla 1.

Caso 5

Mujer de 60 años que ingresa al hospital con neumonía. En los últimos seis meses tomando diuréticos (tiazida) para tratar una falla cardíaca congestiva. El diagnóstico emitido fue de alcalosis respiratoria y metabólica. El diagnóstico sugerido por el programa fue alcalosis mixta.

Caso 6

Hombre de 55 años con enfisema crónico. Con insuficiencia cardíaca tratada con diuréticos (tiazida). Alcalosis metabólica y acidosis respiratoria. Diagnóstico sugerido por el programa: Alcalosis metabólica y acidosis respiratoria crónica.

Caso 7

Mujer de 18 años que ingresó al hospital semicomatosa, después de una supuesta caída en el hogar. El análisis clínico mostró hiperventilación y signos inespecíficos de alteración del sistema nervioso central. El diagnóstico clínico fue de alcalosis respiratoria con acidosis metabólica. El programa sugiere alcalosis respiratoria y acidosis metabólica.

Caso 8

Mujer de 23 años refiere haber ingerido bebidas alcohólicas y sustancias ilícitas por depresión. Sus síntomas son disnea, dolor torácico, se encuentra hipotensa, pálida y con taquicardia. El diagnóstico fue acidosis metabólica y acidosis respiratoria. El programa sugiere acidosis mixta.

Caso 9

Hombre de 19 años, consiente pero desorientado, es diabético tipo I, se queja de dolor abdominal difuso, sed y náuseas. Se reporta que no se administró la insulina. El laboratorio reporta 500 mg/L de glucosa en sangre, el resto de datos se muestra en la Tabla 1. El diagnóstico fue de acidosis metabólica como consecuencia de una cetoacidosis diabética. El programa sugiere acidosis metabólica parcialmente compensada.

Caso 10

Hombre de 58 años, con tabaquismo crónico, sintomatología de infección respiratoria, disnea, somnolencia, inquieto. Se le administra valium y al día siguiente presenta sudoración excesiva y un estado de confusión y sopor. Los datos de laboratorio se muestran en la Tabla 1. El diagnóstico fue de acidosis respiratoria severa. El programa sugiere acidosis respiratoria parcialmente compensada.

Tabla 1. Datos de laboratorio de casos clínicos

CASOS	5* Real - Sim		6* Real - Sim		7* Real - Sim		8** Real - Sim		9*** Real - Sim		10*** Real - Sim	
	pH	7.6 4		7.42		7.43		7.0 2		7.24		7.27
H ⁺ (nmol/L)	23	23. 5	38	39. 3	37	38		94. 6		57. 8		53. 7
PCO ₂ (mmHg)	32	32. 3	87	90. 2	20	20.6	60	59. 1	24	27. 6	72	
PO ₂ (mmHg)	72		63		105		40				108	
HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	33		55		13		15		11.5			32. 1
Dx sugerido	Alcalosis mixta		Alcalosis metabólica y acidosis respiratoria crónica		Alcalosis respiratoria crónica compensada		Acidosis mixta		Acidosis metabólica parcialmente compensada		Acidosis respiratoria parcialmente compensada	
Literatura	Alcalosis y acidosis mixta		Alcalosis metabólica y acidosis respiratoria		Alcalosis respiratoria y acidosis metabólica		Acidosis mixta		Acidosis metabólica		Acidosis respiratoria severa	

* Walmsley y White, 1985.

**<https://es.scribd.com/document/349547636/CASO-CLINICO-RESUELTO-docx>

***<http://ocw.usal.es/ciencias-biosanitarias/bioquimica-ph-equilibrios-acido-2013-base/contenidos/8.%20Casos%20practicos%20de%20alteraciones%20del%20equilibrio%20acido-base.pdf>

CONCLUSIONES

En este trabajo se demuestra que los resultados y diagnósticos sugeridos por el programa son similares a los reportados en la literatura de donde se obtuvieron los casos clínicos. En algunos casos se presentaron pequeñas variaciones; sin embargo, no afectaron el diagnóstico. Se concluye que el programa Equilibrar® proporciona resultados coherentes y satisfactorios. Se propone para ser usado en la enseñanza de la medicina durante la presentación del tema de alteraciones ácido-bases y durante la estancia rotatoria en terapia intensiva. Sin embargo, debe quedar claro que los resultados que emite el programa son solamente sugerencias de diagnóstico y cálculo aproximado de las diferentes variables. Para un diagnóstico clínico final es necesario conocer el historial clínico y el examen minucioso del médico tratante. En consecuencia, el programa de ninguna manera sustituye al médico y el diagnóstico emitido es solamente una guía parcial. El programa puede ser de mucha utilidad en la enseñanza-aprendizaje del tema.

BIBLIOGRAFÍA

1. R. S. Irwin, J. M. Rippe, editor. "Intensive care medicine". Philadelphia: Lipincott, Williams & Wilkins; 2003.
2. P. M. Gauthier, H. M. Szerlip. "Metabolic acidosis in the intensive care unit". Crit Care Clin Vol. 18, 2002, pp. 289-308.
3. J. A. Kellum. "Determinants of blood pH in health and disease". Crit. Care. Vol. 4, 2000, pp. 6-14.
4. T. J. Morgan. "Clinical review: The meaning of acid-base abnormalities in the intensive care unit – effects of fluid administration". Critical Care, Vol. 9, 2, 2005, pp. 204-211.
5. H. J. Adroque, F. J. Gennari, J. H. Galla, N. E. Medias. "Assessing acid-base disorders". Kidney International, Vol. 76, 2009, pp. 1239-1247.
6. R. N. Walmsley, G. H. White. "Mixed acid-base disorders". Clin Chem, Vol. 31, 2, 1985, pp. 321-325.
7. O. Siggaard-Anderson, N. Fogh-Andersen. "Base excess or buffer base (strong ion difference) as a measure of a no-respiratory acid-base disturbance". Acta Anaesthesiol Scand, Vol. 107, 1995, pp. 123-128.
8. P. A. Stewart. "Independent and dependent variables of acid-base control". Respir Physiol, Vol. 33, 1978, pp. 9-26.
9. P. A. Stewart. "Modern quantitative acid-base chemistry". Can J Physiol Pharmacol Vol. 61, 1983, pp. 1441-1461.
10. A. Reyes-Lazalde, M. Reyes-Monreal, M. E. Pérez-Bonilla, R. Reyes-Luna. "Development of a software to determine disturbances in the acid-base balance in human blood". Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica, Vol. 34, 2, 2013, pp. 175-191.
11. R. N. Walmsley, G. H. White. "Mixed acid-base disorders". Clinical Chemistry, Vol. 31, 2, 1985, pp. 321-325.
12. A. L. Tróchez, P. Mera, C. Burgos, F. A. Benítez-Paz. "Interpretación de la acidosis metabólica en el paciente crítico según la teoría de Stewart. Caso clínico- UCI". Revista de la Facultad de Ciencias de la Salud Universidad de Cauca. Vol. 12, 1, 2010, pp. 1-15.
13. R. Carrillo-Esper, P. Visoso-Palacios. "Acidosis metabólica hiperclorémica en el perioperatorio". Revista Mexicana de Anestesiología, Vol. 29, 4, 2006, pp. 245-249.

UTILIZACIÓN DE LA CÁSCARA DE NARANJA COMO BIOADSORBENTE DE METALES PESADO EN AGUA POTABLE

Araceli Jacobo Azuara¹, Claudia Martínez Gómez¹, Ramón Zárraga Núñez¹, Paola Elizabeth Díaz Flores², Selene Berber Mendoza² y Gustavo Rangel Porras¹

¹Universidad de Guanajuato, DCNE Departamento de Química. ²Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Ingeniería.

RESUMEN

La cáscara de naranja, es un residuo generado en gran cantidad, que puede ayudar a reducir el problema de la contaminación generado por metales pesados como cadmio y zinc. Se ha investigado la propiedad de adsorción de la cascara de naranja modificada y carbón activado a partir de esta. Se encontró, que las condiciones para un rendimiento de adsorción de 30-50% son: pH de 4 para los dos materiales adsorbentes. Se hicieron isotermas de capacidad de adsorción (mg/g) & concentración en equilibrio, las cuales se ajustan mediante el modelo de Langmuir. La máxima capacidad de adsorción de Cd²⁺ fue un porcentaje de remoción de 46% y la de Zn²⁺ fue de 56% de remoción. El resultado de fisorción para la naranja modificada fue: área Superficial=0.0868m²/g, Volumen del poro=479.98Å. El estudio del punto de carga cero se encuentra a pH= 5, 6, 7 y 8.

INTRODUCCIÓN

El contenido de metales pesados en el agua ha sido asociado a efectos adversos para la salud del ser humano, incluyendo reacciones alérgicas, neurotoxicidad y cáncer. El agua en México y en el mundo, es uno de los recursos naturales más contaminados, y por esto es un problema medioambiental de gran importancia. El aumento de la contaminación de las aguas residuales urbanas e industriales por iones de metales pesados ha ido creciendo considerablemente, debido a las principales fuentes de contaminación como son las industrias mineras, textiles, metalúrgicas, etc. Las cuales desechan una gran cantidad de metales pesados como son el cadmio (Cd) y el zinc (Zn); estudiados en esta investigación. Para este problema, es decir para la eliminación de los metales pesados se han practicado por décadas métodos de remoción, por ejemplo: intercambio iónico, extracción líquida o electrolítica, métodos que son técnicamente complicados y desfavorables.

En la última década el uso de materiales de origen biológico se ha considerado como una alternativa como material de remoción, ya que este material tiene una alta capacidad de bioadsorción de metales pesados, como por ejemplo cascara, algas, crustáceos, etc. [Minamisawa et al.,2004].

Entre los materiales se tiene que los frutos contienen una sustancia llamada pectina, la cual se puede tratar o reticular por diferentes métodos para convertirla en un material bioadsorbente.

En el presente trabajo se utilizó la cascara de naranja modificada químicamente, como material bioadsorbente para la remoción del catión de zinc y cadmio.

La cascara de naranja es un material de desecho que se encuentra en gran cantidad, que en lugar de ser desecho, esta podría ser tratada para ayudar a descontaminar el medio ambiente. La cascara de naranja contiene un constituyente en su composición como ya se dijo llamado pectina, que es atribuida principalmente a la pared celular; en donde los cationes de los metales pesados se unen por interacciones electrostáticas a los sitios aniónicos de esta pared celular.

Para analizar la cantidad de Cd²⁺ y Zn²⁺ se trató la cáscara de naranja tomando en cuenta las características de esta y se determinaron las condiciones óptimas para tener cierta evaluación de la cantidad de Cd²⁺ y Zn²⁺ retenida o adsorbida, utilizando la naranja tratada y el carbón activado como materiales adsorbentes, esto a partir de Adsorción Atómica.

MÉTODOS Y MATERIALES

Tratamiento de la Cascara de Naranja

Se recolectó cáscara de naranja, para su respectivo tratamiento. Lo primero que se realizó a la cascara de naranja fue un lavado, para luego quitarle la parte blanca del interior de la cascara. Quitada la parte blanca de la naranja se lavó con agua fría y se cortó en trozos pequeños. Proseguimos a lavar los trozos de naranja y se pusieron en un recipiente con agua, en agitación constante a T=60°C, los trozos de naranja se mantuvieron en esas condiciones durante una hora.

Pasada la hora de calentamiento los trozos de naranja de llevaron a un lavado con agua desionizada. Los trozos ya lavados con el agua desionizada fueron secados en el horno a una temperatura de 40 °C, este proceso de secado se llevó a cabo durante todo un día, es decir 24 hrs.

Este tratamiento se realizó con el fin de eliminar los componentes que se encuentran en la naranja, como azúcares, aceites, polímeros de bajo peso molecular y para desactivar enzimas.

Triturado y Molienda de la Cascara de Naranja

Después del tratamiento que se realizó a la cascara de naranja, se llevó a ser triturada y molida.

Se colocó en un molino llamado molino de martillo, estos molinos tienen la característica de moler cualquier material a un cierto tamaño, dicho tamaño es aproximadamente de 8mm cada partícula, porque recurrimos a pasar la cascara de naranja a otro tipo de molino, llamado Molino de Bolas; este tipo de molinos trabaja a diferentes velocidades cada velocidad da cierta eficiencia de molienda.

Proceso de Desmetoxilación

Los 15 g de naranja molida que se secaron después de los lavados con alcohol, se colocaron en 250 mL de hidróxido de sodio (NaOH) 0.2N con un pH=10 y una temperatura T=4°C, este tratado se llevó a cabo durante 2hrs.

Transcurrido este tiempo se lavó el molido de cascara de naranja varias veces con agua destilada, fue para quitar el exceso de NaOH y por último se puso a secar a una temperatura T=40°C, el tiempo de secado fue de 12hrs. Seco el molido de cascara de naranja, se colocó en 350ml de una solución de CaCl₂ 0.2N, y se puso en agitación constante durante 24hrs. Pasadas las 24hrs el molido de cascara de naranja se puso a secar durante 24hrs, tiempo promedio de cada secado. Este tratado se realizó con la finalidad de reforzar la estructura mecánica del molido de cascara de naranja, a este proceso se le conoce como reticulación de la pectina, lo cual permitirá la formación de mallas tridimensionales en la parte interna del material.

Formación del Carbón Activado

-Se tomaron 69.2983g de la cantidad de molido de naranja que se secó directamente del molino de bolas y se llevó a calcinar; la calcinación se llevó a cabo para la formación del carbón activado, para utilizar y hacer todas pruebas también de esta forma, es decir utilizar el carbón activado como material absorbente.

-Luego de la calcinación de la cascara de naranja, se pesó el calcinado de naranja y obtuvimos: 3.317g.

Punto de Carga Cero (PCC)

-Se pusieron 12 tubos cada uno con 50ml de una solución de nitrato de sodio (NaNO₃) 0.01N, y cada tubo fue ajustando a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12 en pH respectivamente y se fue anotando el volumen de ácido o hidróxido agregado para el ajuste y el pH final obtenido.

-El ajuste de pH se realizó con soluciones de HNO₃ 0.01N y 0.1N; e NaOH 0.01N y 0.1N.

-Se preparo otra serie de 12 tubos cada uno con 50ml de una solución de NaNO₃ 0.01, y se agregó a cada tubo 0.1g de molido de naranja tratada.

Estos tubos se dejaron en agitación durante 2hrs. Igualmente se ajustó pH de cada tubo de 1 a 12 respectivamente y se anotó el volumen agregado de ácido o hidróxido y el pH final obtenido. Obtenidos los resultados se graficó pH final & Volumen Agregado, tanto para tubos con los blancos y tubos con la muestra.

Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC)

-Se preparo una solución de Acetato de Sodio 0.1N, se tomaron 50 ml de la solución y se le agregó 1g de molido de naranja tratada y se dejó en agitación y T=25°C durante 1 día. Pasado este tiempo a la solución se le volvió agregar 50ml de la solución de acetato de sodio realizando la misma técnica durante 3 días.

-Pasados los tres días se separó el molido y se lavó con alcohol isopropílico y se dejó secando. Seco el material se preparó una solución de acetato de amonio 0.1N, e igualmente se le fueron agregando 50ml diariamente dejando con las mismas condiciones. Esto se realizó para analizar la cantidad de cationes intercambiables que puede retener el material adsorbente. Este dato se obtiene a partir de la ecuación (3).

$$CIC = \frac{[Na^+]V(100)}{m(pm)} \quad (1)$$

Microscopia Electrónica de Barrido

-Se peso 1g de molido de naranja tratada y 1g de carbón activado, y se llevó para hacer un análisis de estructura, esto para ver la diferencia entre una y otra.

Método para determinar las Isotermas de Adsorción

-Para estudiar este proceso de bioadsorción de los iones de zinc (Zn) y de cadmio (Cd) se realizó lo siguiente:

1.- Se prepararon soluciones de cadmio y zinc a una concentración de 1000ppm, para luego de aquí realizar 5 diluciones a la siguiente concentración: 50ppm, 100ppm, 200ppm, 500ppm.

2.- De los materiales adsorbentes que se prepararon se tomó 0.1g para colocar en 20 tubos, uno para cada una de las concentraciones anteriores. Puesto el gramo de molido de naranja y el gramo de carbón activado en cada uno de los tubos, se ajustó el pH de cada tubo con la solución correspondiente, ajustando así durante 5 días, esto para llegar al equilibrio de adsorción.

Determinación de la Concentración de Cd^{2+} y Zn^{2+}

-Pasados los 5 días de estar regulando pH de cada tubo se separó la solución del material y se llevó a realizar un análisis de concentración en el equilibrio. Este análisis se llevó a cabo en un Espectrofotómetro de Adsorción Atómica (Perkin – Elmer). El valor arrojado por el espectrofotómetro se dividió entre el factor de dilución, para tener la concentración real en el equilibrio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se muestra la naranja calcinada, es decir como carbón activado, y en Figura 2 se muestra el molido de naranja tratada.



Fig. N.º1. Carbón Activado



Fig.N.º2. Naranja Tratada

En la Figura 3 se señala el punto de carga cero (pcc), en donde las concentraciones de H^+ y OH^+ adsorbidos sobre la superficie de la naranja tratada son iguales en el pcc y por lo tanto, es donde la carga de la superficie es neutra y los valores de pH en donde se dio el pcc fueron 5, 6, 7 y 8.

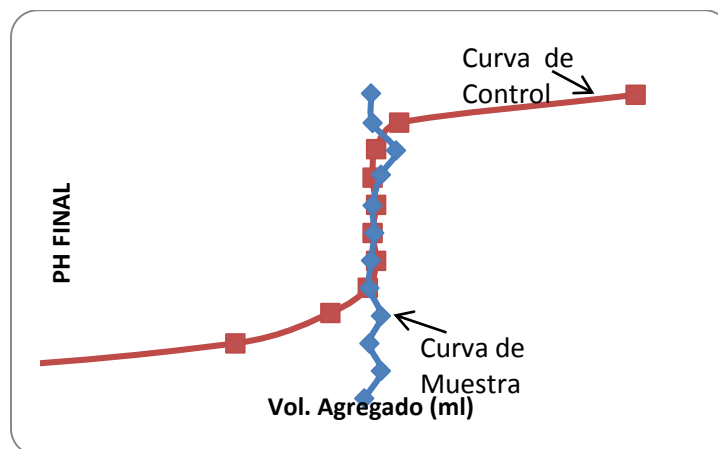


Fig.N.º3. Punto de Carga Cero

En la Tabla 1 se muestran los resultados que se obtuvieron a partir de la Caracterización de la Cascara de Naranja.

Tabla 1. Caracterización de la Cascara de Naranja

Área Superficial (m ² /g)	Volumen del Poro(m ³ /g)	CIC(meq/100g)
0.0868	0.001040	0.15978

En la Figura 4 se muestra la estructura mediante un barrido microscópico de la naranja tratada en la cual se observan las paredes reforzadas, muy uniformes; mientras que en la Figura 5 se muestra la estructura de la naranja como carbón activado, aquí se observan conglomeraciones y grumos, es decir hay más porosidad en su estructura. Lo cual indica que el tratamiento que se realizó a la naranja fue el adecuado. Ya que el objetivo era reforzar y incrementar los poros del molido de cascara de naranja.

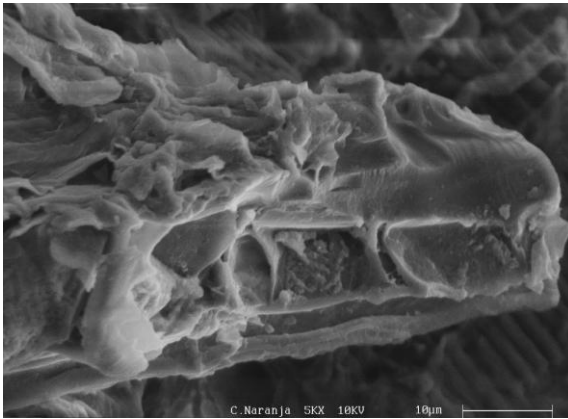


Fig.N.°4.Fotomicrografía de la Cascara de Naranja Tratada. Aumento (10µm – 5kX)

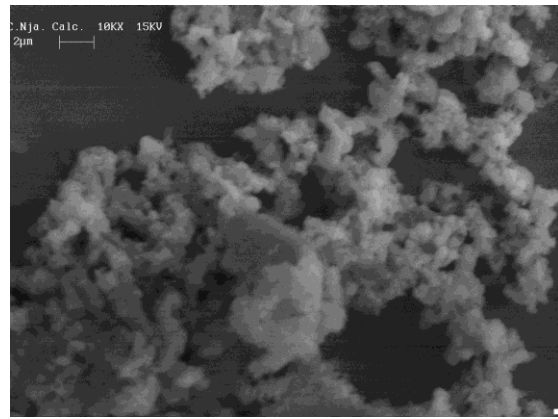


Fig.N.°5. Fotomicrografía de la Cascara de Naranja como Carbón Activado. Aumento (2µm – 5kX)

La Tabla 2 muestra los resultados de las isothermas del proceso de adsorción de Cd²⁺ y Zn²⁺ ya con el tratamiento mediante el modelo de Langmuir y Freundlich.

También se muestran los resultados obtenidos a partir de las ecuaciones (7) y (8). Cuya máxima capacidad de adsorción fue lo siguiente:

q_{\max} (Zn²⁺ y Naranja Tratada)=75.126ppm

q_{\max} (Zn²⁺ y Carbón Activado)=74.090ppm

q_{\max} (Cd²⁺ y Naranja Tratada)=33.51ppm

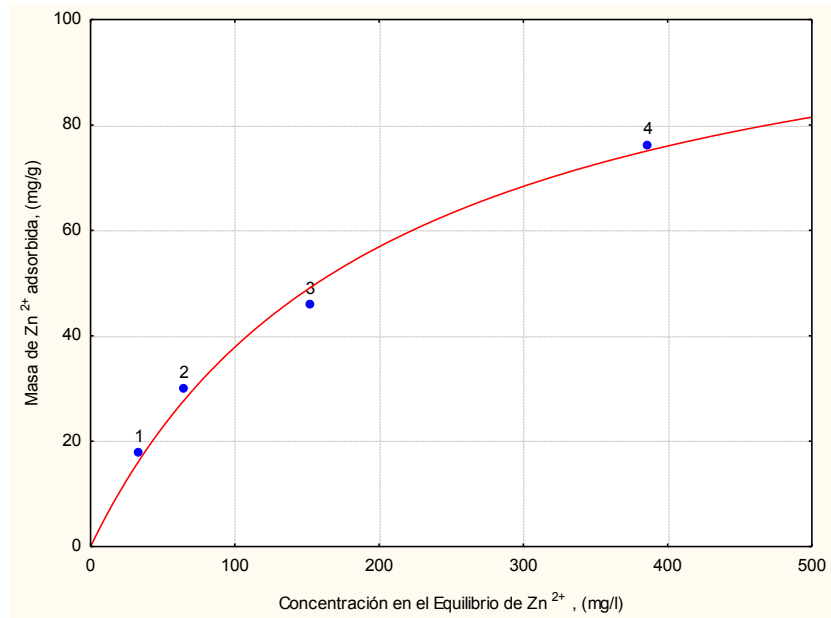
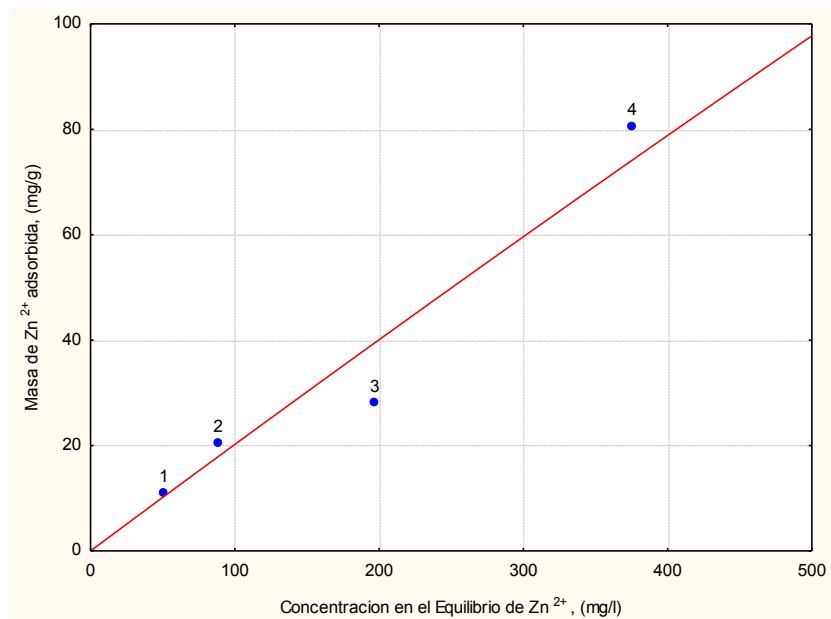
q_{\max} (Cd²⁺ y Carbón Activado)=48.14ppm

Tabla 2. Datos Tratados con Modelos Langmuir y Freundlich para Isotermas

	C_{eq} INICIAL	C_{eq} REAL	q Exp. (mg/g)	q Teorica (mg/g)	% R	%D Langmuir	%D Frundlich
Zn^{2+} Naranja Tratada	78.2125	33.7125	17.8	16.3351	56.8962	8.2297	9.6
	139.875	65	29.95	27.8127	53.5299	7.1362	5.24
	267.1	152.45	45.86	42.1645	42.9239	8.0582	0.6323
	577	386.55	76.18	75.126	33.0069	1.3835	0.327
Zn^{2+} Carbón Activado	78.2125	50.906	10.92	10.32	34.91	5.5	35.12
	139.875	88.5	20.55	17.88	36.72	12.9	32.94
	267.1	197.125	27.99	25.56	26.19	8.6	8.13
	577	375.43	80.62	74.09	34.93	8.1	2.716
Cd^{2+} Naranja Tratada	57.9	31.24	10.67	28.72	46.05	62.8	26.1
	110.17	64.68	18.19	31.15	41.29	41.6	2.91
	221	152.65	27.34	32.63	30.99	16.2	18.1
	576.15	503.5	29	33.44	12.60	13.3	6.95
Cd^{2+} Carbón Activado	57.9	40.15	7.1	12.64	30.66	43.8	61.49
	110.17	73.34	14.7	23.04	33.43	36.2	42.79
	221	154.01	26.8	48.1	30.31	44.28	14.15
	576.15	304.15	108.8	94.1	47.2	15.6	1.54

A partir de los datos obtenidos mediante la experimentación de adsorción atómica de Cd^{2+} y Zn^{2+} por los materiales adsorbentes tratados (Figuras 4 y 5), se dedujo que el pH=4, es el valor óptimo para un porcentaje entre 40 y 50 % de remoción, esto se explica debido a que en la solución hay una gran cantidad de iones hidronio, los cuales compiten con el Cd^{2+} y Zn^{2+} ya que estos se encuentran muy hidratados debido a la reacción de hidrólisis a bajos pH.

Las Figuras 6, 7, 8 y 9 muestran la tendencia de los datos experimentales mediante el tratamiento de Langmuir, tanto para Cd^{2+} como para Zn^{2+} con naranja tratada y carbón activado.

Fig.N.°6. Isotherma de Adsorcion Zn²⁺ a pH=4 y T=25°C (Naranja Tratada)Fig.N.°7. Isotherma de Adsorcion Zn²⁺ a pH=4 y T=25°C (Carbón Activado)

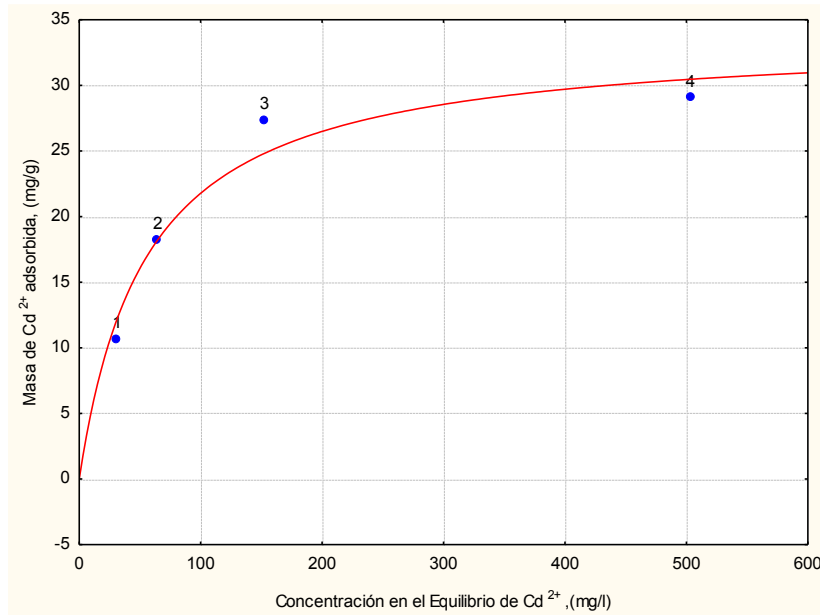


Fig.N.º8. Isotherma de Adsorción de Cd²⁺ a pH=4 y T=25°C (Naranja Tratada)

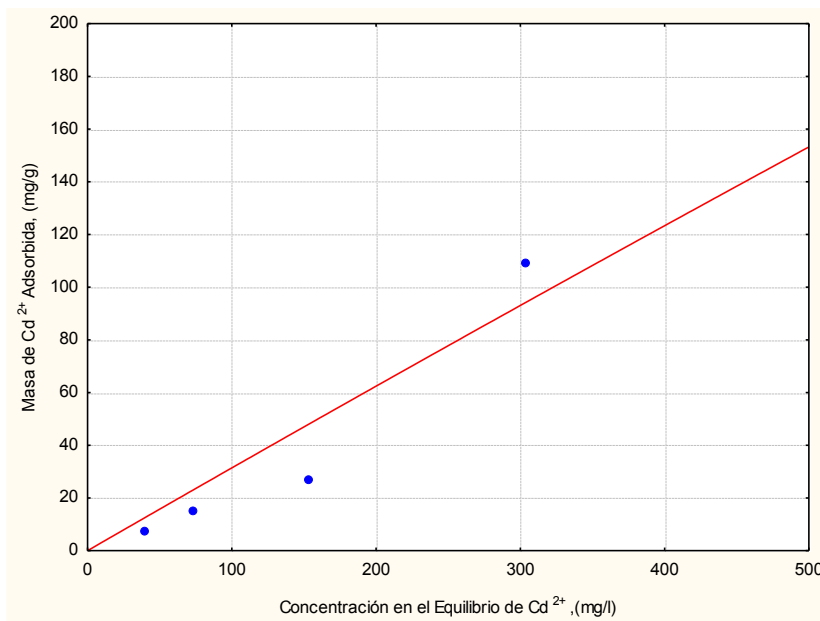
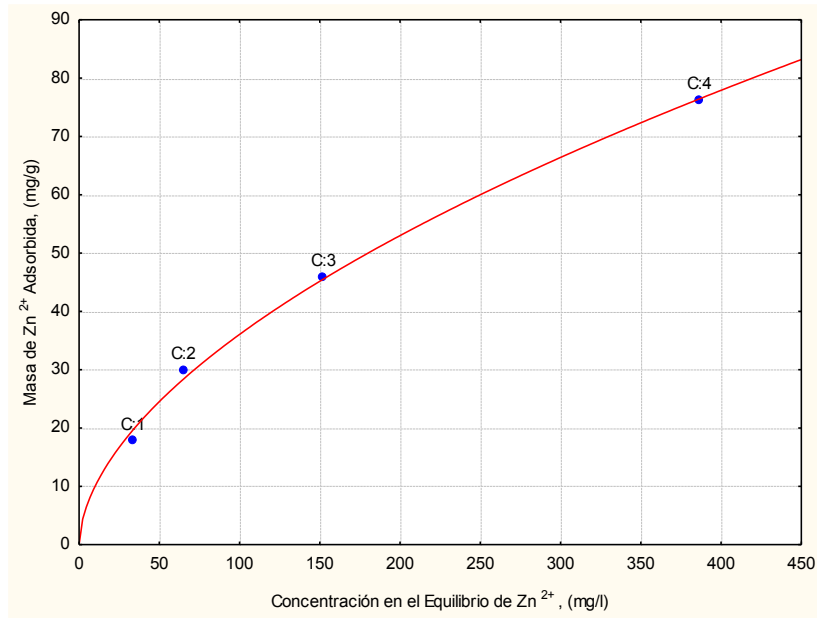
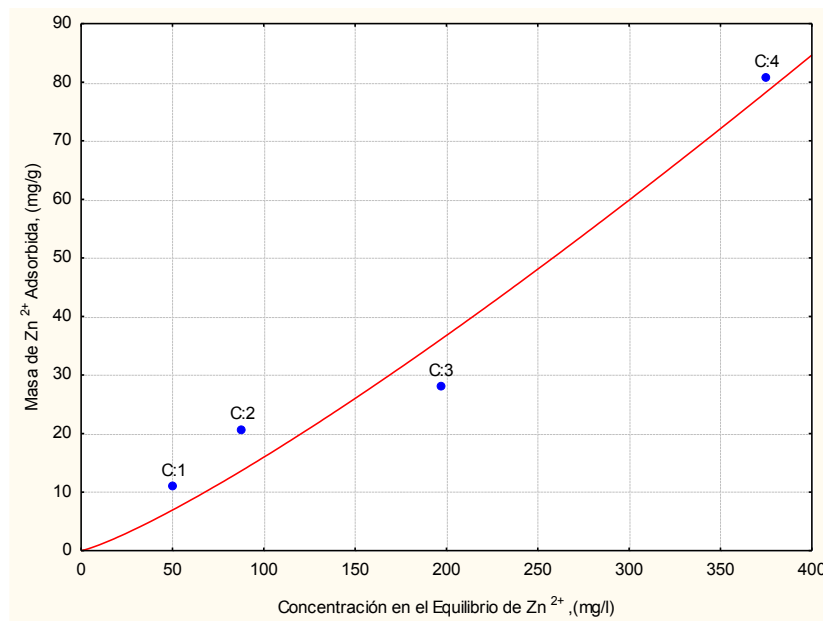


Fig.N.º9. Isotherma de Adsorción de Cd²⁺ a pH=4 y T=25°C (Carbón Activado)

Las figuras 10, 11, 12 y 13 muestran la tendencia de los datos experimentales mediante el tratamiento de Freundlich, tanto para Cd²⁺ como para Zn²⁺ con naranja tratada y carbón activado.

Fig.N.º10. Isotherma de Adsorción Zn^{2+} a $pH=4$ y $T=25^{\circ}C$ (Naranja Tratada)Fig.N.º11. Isotherma de Adsorción Zn^{2+} a $pH=4$ y $T=25^{\circ}C$ (Carbón Activado)

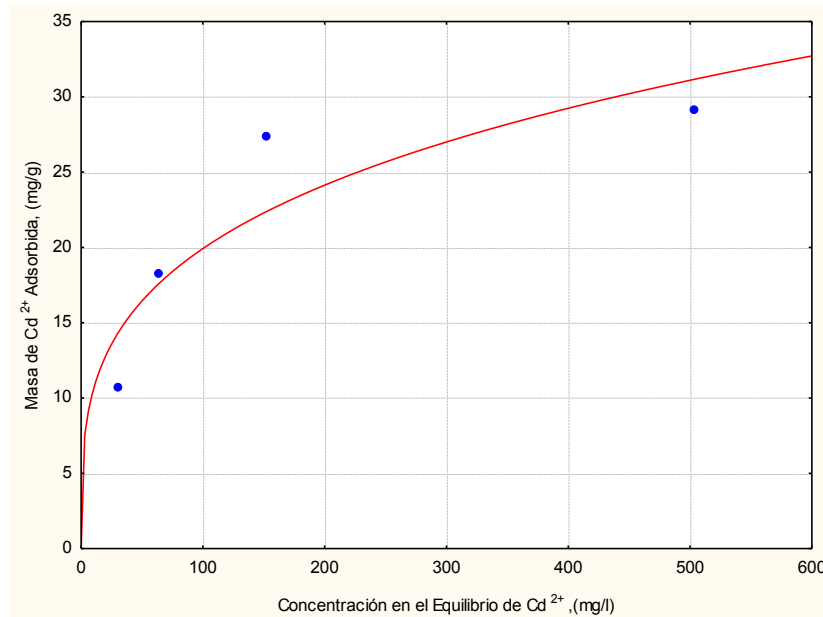


Fig.N.º 12. Isotherma de Adsorción de Cd²⁺ a pH=4 y T=25°C (Naranja Tratada)

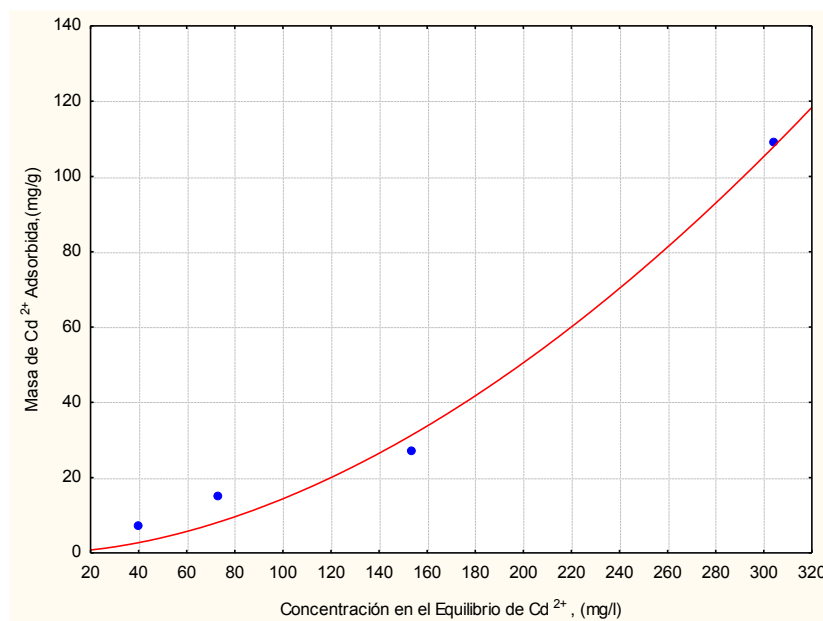


Fig.N.º 13. Isotherma de Adsorción de Cd²⁺ a pH=4 y T=25°C (Carbón Activado)

CONCLUSIONES

En la presente investigación se ha demostrado que la cascara de naranja con el tratamiento que se le aplico, y de acuerdo a los resultados que es un buen material Bioadsorbente de los iones Cd²⁺ y Zn²⁺, teniendo mayor porcentaje de remoción con la Naranja Tratada y Zinc (Zn²⁺).

-De acuerdo a los resultados obtenidos de la experimentación para la realización de las isotermas el pH optimo fue un pH=4, debido que ha pH bajos se lleva a cabo satisfactoriamente la reacción de hidrólisis y por lo tanto hay una gran cantidad de iones dispersados y hay una mayor capacidad de retención.

-A partir del análisis de los datos obtenidos de las Isotermas tratadas con el método de Langmuir y Freundlich se determinó que la Naranja Tratada tiene mayor capacidad de remoción para el Zn^{2+} ya que esta fue de $q_{max}=75.126ppm$ y para el Cd^{2+} , el material adsorbente que tuvo mayor capacidad de remoción fue el carbón activado cuya $q_{max}=48.14ppm$

REFERENCIAS

1. Basso M.C.; Cerrella E.G. y Cukierman A.L. (2002) Lignocellulosic Materials as Potential Biosorbents of Trace Toxic Metals From Wastewater. *Ind.Eng. Chem. Res.* 41(15): 3580-3585.
2. Fernando de Jesús Amezcua López, Diana Mendoza Olivares, *Fundamentos de la Espectroscopia Aplicada a la Instrumentación Química*, Universidad de Guanajuato, 133-146p.
3. José Miguel Martín Martínez, *Adsorción Física de Gases y Vapores mediante Carbones*, EEspagráfic, 17-32p.
4. Korean J.Chem. Eng., Biosorption of Cadmium Ions Using *Pleurotus Ostreatus*: Growth Kinetics, Isotherm Study and Biosorption Mechanism. 28(3): 825-830 (2011).
5. Lugo Lugo Violeta, (2003), Universidad Autónoma del Estado de México, *Citrus sp*, Efecto de la Irradiación γ en la Biosorción de Cr(VI) por Cascara de Naranja.
6. Mónica Omaña, Farid Cortes, (2010), *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, Isotermas de Sorción de Agua en Residuos de extracción de Jugo de Naranja. Vol. 8, (1).
7. Nelson J. Tapía H, Juan Carlos Muñoz C, (2003), *Rev.Per. Quím*, Biosorción de Pb(II) por Cascara de Naranja, *Citrus Cinesis*, Vol.5, (2): 48-53.
8. Volesky, B. and Holan, Z.R. (1995). "Biosorption of heavy metals", *Biotechnol. Progress*, 11, 235-250.

NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE MAGNESIO COMO MICROBICIDA

Ramiro Muñiz Díaz, Rita Judit Patakfalvi, Virginia Villa Cruz, José Antonio Pérez Tavares, Héctor Pérez Ladrón de Guevara y Edith Avalos Marrón.

Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara, Av. Enrique Díaz de León 1144, Col. Paseos de la Montaña, 47460, Lagos de Moreno, Jalisco, México, rpatakfalvi@culagos.udg.mx

RESUMEN

La última década ha sido testigo de los enormes esfuerzos de investigación en la síntesis y estudio de materiales capaces de tener efectos sobre cepas bacterianas. En este trabajo se propuso la preparación de un material nanométrico de MgO. Tal material, presenta potenciales propiedades bactericidas ya que puede presentar analogía con nanopartículas de tipo metálico como las de plata, cobre, oro etc. La toxicidad de las nanopartículas de MgO se basa en la presencia de defectos / vacancias / huecos de oxígeno en la superficie generando especies reactivas de oxígeno (ERO) tales como el radical superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$), radical hidropéroxido ($\text{HO}_2\cdot$), ión peróxido (O_2^{2-}), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) precursores de la peroxidación de lípidos. Las nanopartículas de MgO se obtuvieron por reacción solvotérmica y se caracterizaron por espectroscopia UV-vis, FTIR y difracción de rayos X. Se estudiaron sus propiedades bactericidas en dos cepas bacterianas de tipo Gram negativa y Gram positiva. Hasta el momento se ha realizado la verificación de la generación de H_2O_2 indicada como una especie reactiva de oxígeno.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades respiratorias y diarreicas ocupan un lugar importante en los países en vías de desarrollo. Debido a la frecuencia con que se presentan estas enfermedades, la prescripción y la automedicación de antibióticos aumenta los índices de infección. Se ha considerado que el uso inapropiado o excesivo de antibióticos genera la aparición de cepas resistentes, fenómeno que se ha hecho muy evidente en el ámbito hospitalario^[1] a pesar de que existen guías o normas para el manejo de estos. Por lo tanto, con el fin de resolver este problema, es necesario el desarrollo de agentes antimicrobianos eficaces para controlar la población bacteriana. Los agentes antibacterianos se pueden clasificar como orgánicos o inorgánicos. Los orgánicos tales como ácidos, aceites esenciales, bacteriocinas y enzimas han sido ampliamente estudiados. Sin embargo, tienen algunos defectos, tales como su alta fotosensibilidad y su baja resistencia al procesamiento, lo que limita sus aplicaciones. Como resultado de ello, los agentes antibacterianos inorgánicos han atraído mucho interés para el control de bacterias, la principal ventaja de estos, son la estabilidad bajo condiciones de procesamiento severas y la resistencia lumínica.^[2]

Actualmente, algunos de los materiales antibacterianos inorgánicos de forma nanométrica más estudiados son los óxidos metálicos, tales como ZnO, MgO, CaO y TiO_2 , los cuales son de particular interés debido a que son estables bajo condiciones severas, inocuos para los humanos (células mamíferas), tamaño / morfológicas adecuadas y costeables. Algunos de estos (ZnO, MgO, CaO) no requieren fotoactivación para tener un efecto bactericida, en comparación con TiO_2 que si requiere activarse.^[3-6] Todos estas especies químicas pueden ser equiparadas como las nanopartículas coloidales de plata.

Las nanopartículas de MgO han tenido relevancia por tener defectos puntuales de oxígeno en la superficie, pero solo hay poco conocimiento sobre el mecanismo antibacteriano.^[7] Por lo cual se ha propuesto una serie de mecanismos similares a las nanopartículas de Ag, que van desde la formación de especies reactivas de oxígeno (ERO) como:^[8,9] radical superóxido (O_2^-), oxígeno singlete y peróxidos de hidrógeno (H_2O_2); estos por la presencia de defectos en la estructura por espacios vacantes de oxígeno en la superficie de las nanopartículas, posteriormente interaccionan con los lípidos dañando la pared celular por reacciones de lipoperoxidación (peroxidación lipídica).^[10,11] El efecto alcalino se ha considerado como factor principal en la acción antibacteriana de nanopartículas de MgO proponiendo que los microorganismos absorben la humedad de la superficie de las nanopartículas, la cual es una capa delgada alrededor de ellas. El pH local de la capa delgada de agua pudiera ser más alto que el valor de equilibrio en solución sugiriendo un daño a la membrana celular y por consiguiente muerte celular. Las nanopartículas de MgO han mostrado actividad bactericida en las bacterias Gram positivas como en Gram negativas.^[12,13]

PARTE EXPERIMENTAL

Para la obtención de las nanopartículas de MgO se usaron reactivos adquiridos de forma comercial y usados sin previa purificación: acetato de magnesio tetrahidratado $Mg(OAc)_2 \cdot 4H_2O$, trietilamina (Et_3N), polietilenimina (PEI) (Sigma-Aldrich), yoduro de potasio (KI), cloruro de potasio (NaCl), ácido clorhídrico (HCl), almidón $(C_6H_{10}O_5)_n$ y disolventes metanol (MetOH), etanol (EtOH) y agua desionizada.

La síntesis del material se llevó a cabo por la siguiente metodología: Se preparó una solución estabilizadora en metanol de PEI en la cual se disolvió una adecuada cantidad de $Mg(OAc)_2 \cdot 4H_2O$ y Et_3N . La reacción se realizó de forma solvotérmica a 120 °C por 3 h, se dejó envejecer por 24 h, luego se lavó (metano-etanol-agua) y se centrifugó a 6000 rpm. El producto recuperado se secó a 70 °C por 24 h y posteriormente calcinado a 800 °C por 5 h. El material obtenido fue caracterizado por espectroscopia FTIR y difracción de rayos X.

La actividad antibacteriana de las nanopartículas de MgO se probó bajo el tratamiento estándar de normalización de "Clinical and Laboratory Standards Institute" (CLSI), los microorganismos puestos a prueba fueron *Escherichia coli* (ATCC 25922) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Para el análisis se hicieron diluciones seriadas de 100, 250, 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500 y 4000 partes por millón, en 1 mL en agua estéril y ajustadas con caldo Mueller-Hinton. A cada dilución, se añadió 1 mL de suspensión bacteriana (5×10^5 UFC/mL). Se incubaron durante 24 h a 37 °C (± 2 °C). En el ensayo incluyó: controles positivos (medio sin nanopartículas) y control negativo (medio sin bacterias). Al terminar el periodo de incubación, 100 μ L fueron inoculados en placas con agar Mueller-Hinton, las placas se incubaron por 24 h a 37 °C (± 2 °C). En las cuales se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) y bactericida (CMB) [14,15].

La presencia de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) se determinó por espectrofotometría UV-vis con yoduro de potasio (KI) y almidón a 580 nm. Para esto, suspensiones acuosas de nanopartículas de MgO, con concentración de 5 g/L, se mantuvieron irradiadas por luz natural y bajo oscuridad. Previo al análisis, las suspensiones fueron sonificadas en oscuridad durante 10 min. Posteriormente fueron homogenizadas en agitación magnética durante 4 h. Después fueron filtradas utilizando una membrana Millopore de nylon de 0.22 μ m. En un matraz volumétrico fueron agregados 5 mL de la suspensión filtrada, 0.5 mL de NaCl (200 g/L), 0.2 mL de HCl (3.6 % en volumen), 0.3 mL de una solución de KI (10 g/L), y 0.2 mL de almidón (10 g/L). Se aforó con agua desionizada. Por último, se sonó 10 minutos [16].

RESULTADOS

Se analizaron las nanopartículas de MgO con espectroscopia infrarroja antes y después de la calcinación (Figura 1). Los resultados confirmaron que con la síntesis se obtuvieron partículas de $Mg(OH)_2$ (Figura 1, línea roja) y después de la calcinación las partículas de MgO (línea azul). Se muestran las bandas características para el MgO (532 y 862 cm^{-1}) asociadas a las vibraciones de O-Mg-O y Mg-O respectivamente. Para el hidróxido de magnesio las asignaciones de 3700 cm^{-1} y 36045 cm^{-1} se deben al modo de vibración simétrica del grupo hidroxilo superficial (ν_{str} -OH) y las señales entre 1649 y 1453 cm^{-1} asociados a las vibraciones tipo tijera sobre el plano (δ_s - H-OH) de moléculas de agua. La figura 2, se muestra el patrón de difracción de rayos X de las nanopartículas de MgO después de la calcinación. Los cinco picos difractados están indexados a una red cúbica centrada en las caras, concordando con los índices de Miller indicados en la parte superior de cada señal.

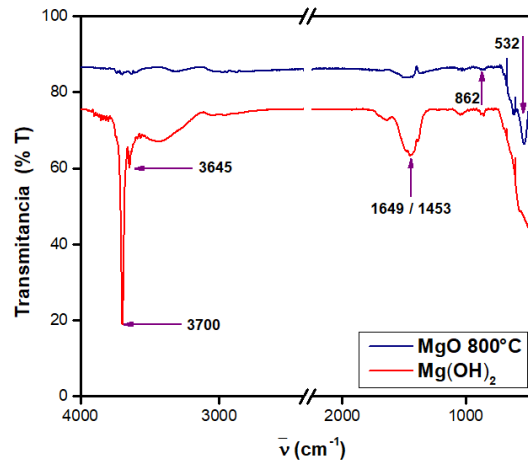


Figura 1. Espectro de FTIR de nanopartículas de MgO calcinadas e hidratadas.

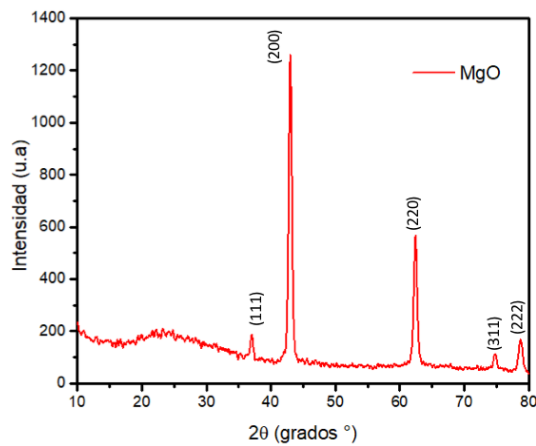


Figura 2. Patrón de difracción de rayos X de MgO.

Por lo tanto, la producción de peróxido de hidrogeno se detecto tanto para partículas irradiadas como las que se mantuvieron bajo obscuridad. En la figura 3 se muestra la producción del H₂O₂ de las suspensiones de MgO detectando entre 500 y 600 nm determinada por espectrofotometría UV-vis con KI y almidón. Principalmente, el H₂O₂ generado puede oxidar el ión yodo y cuando se mezcla con el almidón soluble (incoloro), se forma el complejo de almidón-yodo intensamente coloreado, que tiene una absorbancia máxima entre este rango en el espectro de absorción UV-vis. Entonces, la absorbancia observada en la figura 3 corresponde a la detección del peróxido de hidrogeno en el filtrado de las suspensiones de MgO.

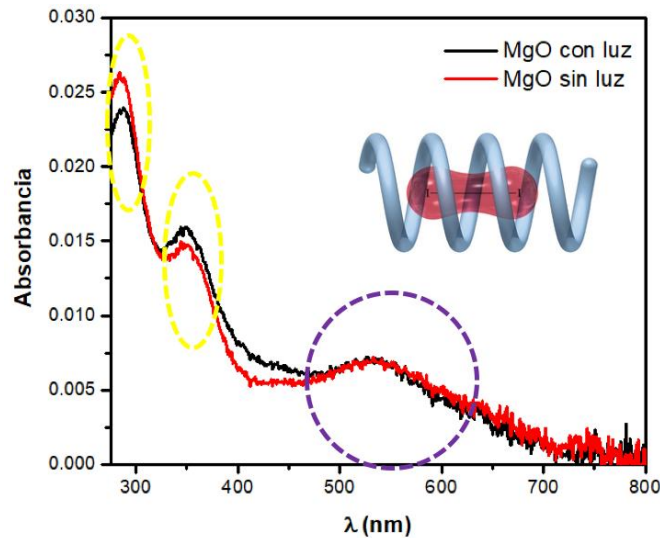


Figura 3. Producción de H_2O_2 en las suspensiones de MgO con luz y en la oscuridad.

Los efectos antibacterianos de las nanopartículas de MgO se investigaron utilizando cepas bacterianas Gram negativas y Gram positivas, *E. coli* y *S. aureus*, respectivamente, mediante el método de macrodilución y el consiguiente extendido en placa. Las concentraciones de inhibición se observaron a partir del tubo 4 para *E. coli* y tubo 3 para *S. aureus* captadas en la figura 4a y 4b. Estos tubos indican la actividad antibacteriana de MgO ya que no se produce crecimiento bacteriano. Al realizar la extensión en placa de 100 μ L de estas suspensiones de observa que efectivamente la actividad antibacteriana de las nanopartículas fue más alta en *S. aureus* a una concentración de 1000 ppm comparando y observado la prueba de *E. coli* que requiere una dosis de 2000 ppm. Los resultados obtenidos son expresados por el método de recuento de placa UFC/mL. Esta inhibición se atribuye en parte a la observación general, de que las cepas bacterianas Gram positivas son más susceptibles a los materiales antibacterianos en comparación con cepas Gram negativas debido a las diferencias en la estructura de su pared celular. El mecanismo de inhibición bacteriano para nanopartículas del tipo óxido metálicos es generalmente atribuido a la generación de radicales reactivos de oxígeno.

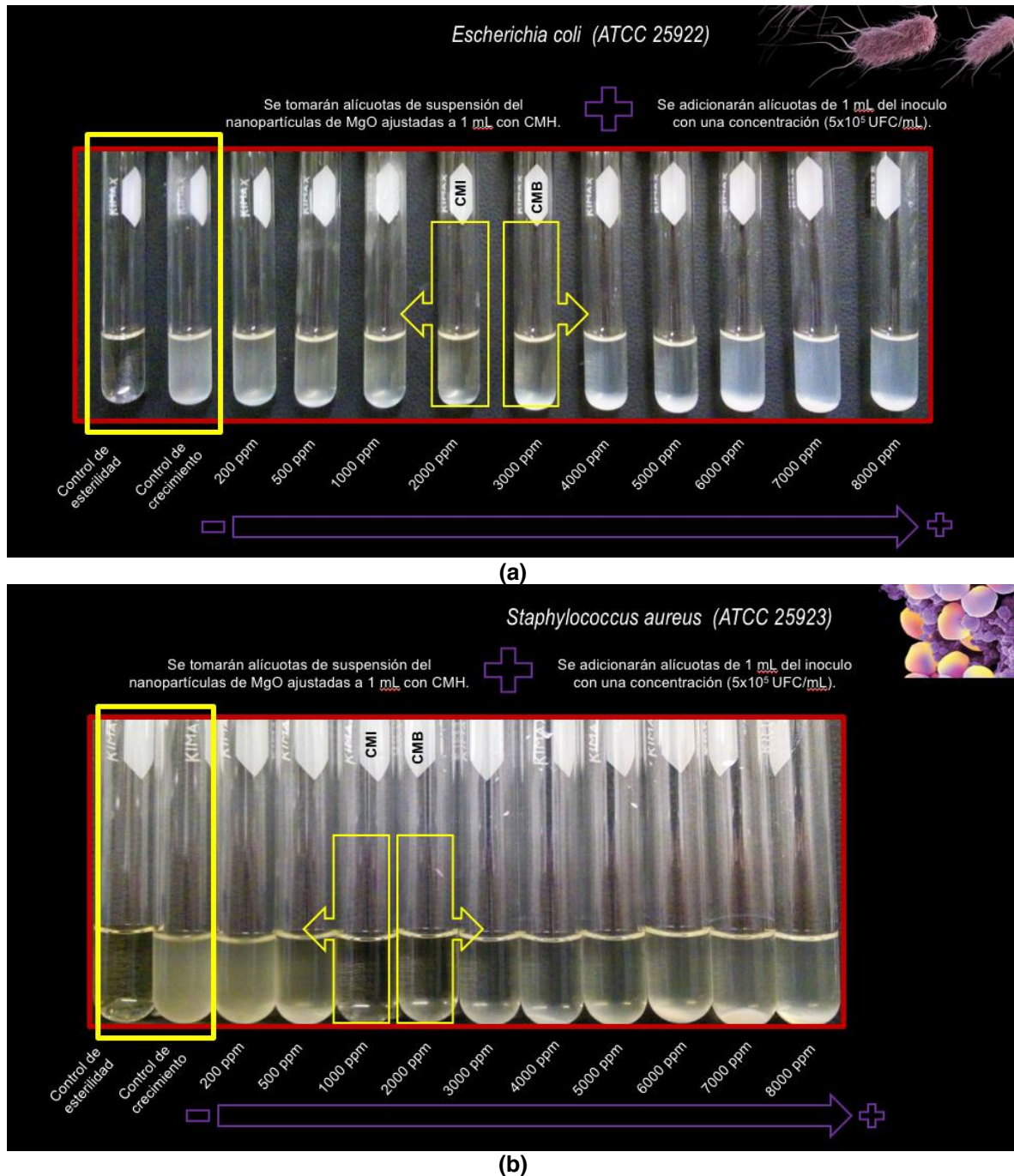


Figura 4. Concentración mínima inhibitoria (CMI) y determinación de la concentración mínima bactericida (CMB) *E.coli* (a) y *S.aureus* (b).

CONCLUSIÓN

- En este trabajo se sintetizaron y caracterizaron nanopartículas de MgO utilizando un agente precipitante orgánico.
- El material fue determinado de manera satisfactoria mediante varias técnicas de caracterización que nos ayudaron a conocer la estructura del sintetizado.

- Además, se ha identificado en las suspensiones de MgO la presencia de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) como una especie reactiva de oxígeno. La cual puede provocar peroxidación lipídica en las membranas de las bacterias Gram positivas y Gram negativas.
- La presencia de peróxido de hidrógeno (H_2O_2), en las suspensiones de nanopartículas de MgO, como una especie reactiva de oxígeno. La cual puede provocar peroxidación lipídica en las membranas de las bacterias Gram positivas y Gram negativas, vulnerando la estructura de la bacteria y posiblemente afectando su funcionalidad.
- Las suspensiones de nanopartículas de MgO presentaron actividad antimicrobiana frente E. coli y S. aureus. Siendo más susceptible la cepa de S. aureus. Se puede considerar que las suspensiones de nanopartículas de MgO, pueden tener mayor actividad antimicrobiana a bacterias Gram positivas, determinado la CIM y CBM para ambas cepas bacterianas.

BIBLIOGRAFÍA

1. D.A Goldmann, & W. Huskins, Control of nosocomial antimicrobial-resistant bacteria: A strategic priority for hospitals worldwide, *Clinical Infectious Diseases*, 1997, pp.139-145.
2. T. Zhen-Xing, & L. Bin-Feng, MgO nanoparticles as antibacterial agent: Preparation and activity, *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, Vol. 31, 2014, pp. 591-601.
3. Y. Huang, J. Komoto, K. Konishi, Y. Takata, H. Ogawa, T. Gomi, M. Fujioka, & F. Takusagawa, Mechanisms for auto-inhibition and forced product release in glycine N-methyltransferase: crystal structures of wild-type, mutant R175K and S-adenosylhomocysteine-bound R175K enzymes, *Journal of Molecular Biology*, Vol. 298, 2000, pp. 149-162
4. J. Sawai, Quantitative evaluation of antibacterial activities of metallic oxide powders (ZnO, MgO and CaO) by conductimetric assay, *Journal of Microbiological Methods*, Vol. 54, 2003, pp 177-182.
5. J. Sawai, & T. Yoshikawa, Quantitative evaluation of antifungal activity of metallic oxide powders (MgO, CaO and ZnO) by an indirect conductimetric assay, *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 96, 2004, pp 803-809.
6. H. Goto, Y. Hanada, T. Ohno, & M. Matsumura. Quantitative analysis of Superoxide ion and hydrogen peroxide produced from molecular oxygen on photoirradiated TiO_2 particles, *Journal of Catalysis*, Vol. 225, 2016, pp 223-229.
7. S. Makhlef, R. Dror, Y. Nitzan, Y. Abramovich, R. Jelinek, & A. Gedanken, Microwave-assisted synthesis of nanocrystalline MgO and its use as a bactericide, *Advanced Functional Materials*, Vol. 15, 2005, pp 1708-1715.
8. H.L. Yu, M.C.N Alan, X. Xiaoying, S. Zhiyong, A.G. Lee, T.W. Mabel, M.N.C Charis, Y.G. Mu, H.N. Yip, B.D. Aleksandra, K.H.L. Patrick, K.C. Wai, H.Y. Li, L.P. David, P.Y.M. Angel, & C.C.L. Frederick, Mechanisms of antibacterial activity of mgo: Non-Ros mediated toxicity of MgO nanoparticles towards Escherichia coli. *Small*, Vol. 6, 2014, pp 1171-1183.
9. Z. Xiwei, W. Dan, W. Wei, T. Fatang, K.W. Po, W. Xinyun, Q. Xiaolin, & Q. Xueliang, Highly effective antibacterial activity and synergistic effect of Ag-MgO nanocomposite against Escherichia coli, *Journal of Alloys and Compounds*, Vol. 684, 2016, pp 282-290.
10. B.N. Saleh, J.D. Milliron, A. Nirupam, E. Lynn Katz, M.H. Liljestrang, & M. Jo Kirisits, Importance of doping, dopant distribution, and defects on electronic band structure alteration of metal oxide nanoparticles: Implications for reactive oxygen species, *Science of the total Environment*, Vol. 568, 2016, pp 926-932.
11. K. Krishnamoorthy, J.Y. Moon, H.B. Hyun, S.K. Cho, & S.J. Kim, Mechanistic investigation on the toxicity of MgO nanoparticles toward cancer cells, *Journal of Materials Chemistry*, Vol. 22, 2012, pp 24610-24617.
12. M. Smekalova, V. Aragon, A. Panacek, R. Prucek, R. Zboril, & K. Libor, Enhanced antibacterial effect of antibiotics in combination with silver nanoparticles against animal pathogens, *The Veterinary Journal*, Vol. 209, 2016, pp 174-179.
13. M.D. Solmaz, L. Farzaneh, B.J. Mohammad, H.Z. Mohammad, & A. Khosro, Antimicrobial activity of the metals and metal oxide nanoparticles, *Materials Science and Engineering C*, Vol. 44, 2014, pp 278-284.

14. I. Wiegand, K. Hilpert, & R.E. Hancock, Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances, *Nature Protocols.*, Vol. 3, 2008, pp 163-175.
15. S.D. Sarker, L. Nahar, & Y. Kumarasamy, Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals, *METHODS.*, Vol. 42, 2007, pp 321-324.
16. X. Xu, S.Chen, Z.Yi, M. Jiang, L.Wang, Z.Zhou, X.Fan, Y.Wang, & D.Hui, Antimicrobial Mechanism Based on H₂O₂ Generation at Oxygen Vacancies in ZnO Crystals, *Langmuir.*, Vol. 29, 2013, pp 5573-5580.

EFFECTO DEL AGUA EN LA EXTRACCIÓN DE ACEITE Y MUCÍLAGO DE CHÍA

José Roberto Contreras Bárbara¹, Ana Isabel Flores Yépez¹, Macaria Hernández Chávez², Liliana Denis Cárcamo Guzmán¹, Miriam Esther López Ruiz¹, Nayely Peña González¹, Blanca Eva González Monroy¹, Abdiel Ramírez Reyes¹, Keops Xeki García Galván¹ y Rogelio Cuevas García³

¹Instituto Tecnológico de Atitalaquia, ²Lab. de Química, UPIIH, Instituto Politécnico Nacional,

³Universidad Nacional Autónoma de México.

RESUMEN

El contenido de ácido linolénico, ácido linoleico, fibra, vitaminas y minerales presentes en la semilla de chía (*Salvia hispanica*) hacen atractiva a la semilla como una fuente de alto valor nutritivo. Por esta razón existe un interés en la extracción de aceite, aunque hasta el momento se realiza de manera artesanal, encontrándose diversos factores que alteran la calidad del producto final. Tal como el agua contenida en la semilla de chía que afecta en la eficiencia de la extracción del aceite, por lo cual se han propuesto diferentes métodos buscando reducir su concentración y mejorar las características fisicoquímicas del aceite. En el presente trabajo se realizó un estudio del efecto del agua en la extracción del aceite de chía y mucílago. De acuerdo con los resultados se encontró que la extracción de aceite con pretratamiento de secado durante dos horas favorece el rendimiento y mejora la apariencia del producto final. Con respecto a la extracción del mucílago no se observó algún efecto significativo a partir del secado previo. El aceite crudo se analizó por espectroscopia de infrarrojo con ATR. El estudio de la composición química del aceite de chía se realizó por cromatografía de gases y espectrofotometría de masas. Los resultados mostraron bandas en el espectro de infrarrojo atribuidas a los dobles enlaces del triglicérido en el aceite de chía y que en cromatografía de gases-masas indicaron una alta concentración de ácido alfa-linolénico (serie omega-3).

INTRODUCCIÓN

La chía es originaria de Centroamérica, su uso y cultivo en el Valle de México se remonta a unos 3500 años A.C. Para los mayas la chía formaba parte de los cuatro cultivos básicos de su alimentación, por su parte, los mexicas la utilizaban para usos medicinales, como en la elaboración de ungüentos y cosméticos (Guzmán, 2014). Con el paso del tiempo la producción se redujo, básicamente por el sistema de agricultura y comercialización de Mesoamérica, se modificó tras la conquista, provocando así su remplazo por el trigo, la cebada y el arroz (Ugena, 2015). A finales del siglo pasado el interés por la chía resurgió a partir de que se reconocieron sus propiedades nutricionales y el cultivo se reactivó gracias a un programa de desarrollo e investigación de la Universidad de Arizona, (Guzmán, 2014).

Se ha determinado que la semilla de chía contiene 32% de aceite, ofreciendo un contenido elevado de ácido α -linolénico (ω -3), así mismo entre sus componentes principales se encuentran también el ácido linoleico, fibra dietética, proteínas, vitaminas, minerales, no contienen gluten y tienen un bajo contenido de sodio (González, 2010).

Existen factores que alteran las características del aceite (producto final), como el agua contenida en la semilla de chía, el disolvente de extracción y la humedad del ambiente en el proceso de extracción. En este sentido no hay suficiente información que hagan énfasis en la eliminación del agua presente en las condiciones de extracción, lo cual provoca el apareamiento del mucílago.

En este trabajo se propuso determinar los efectos del agua en la extracción del aceite de chía y mucílago. Para ello se utilizó alcohol etílico como disolvente de extracción en un equipo Soxhlet para evitar el uso de compuestos de alta volatilidad y tóxicos que pudiesen generar en el aceite comestible.

TEORÍA

La chía pertenece a la familia *Lamiaceae* y el género *Salvia*, que incluye unas 900 especies que se distribuyen extensamente en varias regiones del mundo. *Salvia Hispanica L* es una planta herbácea anual que mide de 1 a 1.5m de altura, con tallos ramificados, con pubescencias cortas y blancas, que se caracteriza por sus flores llamativas de múltiples colores. Las hojas se encuentran opuestas con bordes aserrados y de color verde intenso. Las flores son hermafroditas de un tono entre violeta

y celeste o blancas, pedunculadas y reunidas en grupos de 6 o más, en verticilos sobre el raquis de la inflorescencia. El fruto, al igual que otras especies de esta familia es un esquizocarpo consiste en lóculos indehiscentes que se separan para formar 4 mericarpios parciales denominados núculas, común mente conocidos como semillas, los cuales son monospermicos ovales, suaves y brillantes, de color pardo grisáceo con manchas irregulares marrones en su mayoría y algunos blancos, miden entre 1.5 a 2mm de longitud (Díaz, 2015).



Figura 1. Planta y semilla de Chía

Composición de la semilla de chía

La semilla de chía (*Salvia Hispánica L.*) está compuesta principalmente por proteínas (20%), minerales (Ca, Fe, Mg, K, Zn, P, Cu y B), vitaminas (A, C y el grupo B como ácido fólico), aminoácidos (contiene los 10 aminoácidos esenciales que el cuerpo necesita), carbohidratos (contiene del 35 al 40% de su peso final) y fibra (31.5%), entre otros. En comparación con otros alimentos tiene de proteína dos veces más que cualquier semilla, cinco veces más calcio que la leche entera, dos veces más potasio que los plátanos, tres veces más antioxidantes que los arándanos, tres veces más hierro que las espinacas y siete veces más omega 3 que el salmón (Guzmán, 2014).

En la Tabla 1 se muestra la composición de la semilla de chía y la correspondiente a los 5 cereales de mayor importancia a nivel mundial (arroz, cebada, avena, trigo y maíz). En la misma puede observarse el contenido de proteínas, lípidos, fibra y energía de la semilla de chía es mayor que los cereales mencionados (Capitani, 2013).

Tabla 1. Energía y composición centesimal correspondiente a diversos granos

Grano	Energía (kcal/100g)	Proteínas (%)	Lípidos (%)	Carbohidratos (%)	Fibra (%)	Cenizas (%)
Arroz ¹	358	6.5	0.5	79.1	2.8	0.5
Cebada ¹	354	12.5	2.3	73.5	17.3	2.3
Avena ¹	389	16.9	6.9	66.3	10.6	1.7
Trigo ¹	339	13.7	2.5	71.1	12.2	1.8
Maíz ¹	365	9.4	4.7	74.3	3.3	1.2
Chía ^{2,3}	550	19-23	30-35	9-41	18-30	4-6

¹United States Department of Agriculture (2002); ²Ayerza y Coates (2004); ³Diario Oficial de la Unión Europea (2009)

El contenido de aceite presente en la semilla de chía es alrededor del 33%, el cual presenta el mayor % de ácido α -linolénico, así como un alto contenido de ácidos grasos esenciales (82.3%) seguido por el cártamo, el lino y el girasol con 75, 72 y 67% respectivamente.

Se dispone en el mercado de cuatro fuentes de ácidos grasos $\omega - 3$, la composición ácida de estas cuatro materias primas, el lino y la chía son los cultivos agrícolas que presentan la mayor concentración de ácido α -linolénico; el pez Menhaden y las algas de origen marino y contienen principalmente DHA y EPA (ácidos docosahexanoico y eicosapentanoico) ambos ácidos grasos $\omega - 3$ de cadena larga (Capitani, 2013).

En lo que respecta al enriquecimiento de alimentos con ácido graso $\omega - 3$, la chía presenta la ventaja de no aportar el característico “olor a pescado” lo que la diferencia de las otras fuentes previamente mencionadas (Capitani, 2013).

El mucílago es un polisacárido heterogéneo, formado por diferentes azúcares y en general lleva ácidos urónicos; se caracteriza por formar disoluciones coloidales viscosas, geles en agua (Guzmán, 2014).

El mucílago de la semilla de chía es un polisacárido de alto peso molecular, se encuentra en las tres capas exteriores de la cubierta de la semilla. Cuando la semilla es puesta en un medio acuoso exuda el polisacárido mucilaginoso que lo rodea. El contenido de ácido urónico es característico de este compuesto, siendo para el mucílago de chía aproximadamente un 25% (Lara, 2017).



Figura 2. Mucílago de la Chía

El mucílago es muy parecido a una goma, por lo que suele clasificarse como tal, pero su diferencia radica en el origen de cada uno. Los mucílagos son propios de plantas, mientras que las gomas son el resultado generalmente de membranas celulares y la exudación. (Lara, 2017)

El mucílago es producto del metabolismo de las plantas y se acumula en células especiales dentro de los tejidos. Estos se localizan como material de reserva hidrocarbonado, reserva de agua en plantas o bien como elementos estructurales en vegetales inferiores (algas), proporcionándoles elasticidad y suavidad (Lara, 2017).

Es utilizado en las emulsiones y suspensiones de modo excipiente, como vehículo cuya función es el transporte de los fármacos encargados de constituir un medicamento. Su objetivo es conseguir un fármaco estable y fácilmente administrable. Es decir, se utilizan para vehicular, cohesionar y conseguir la biodisponibilidad adecuada del principio activo de un medicamento. Determinan la consistencia, la forma o el volumen de las preparaciones farmacéuticas. Por oxidación dan ácido múxico y por hidrólisis, pentosas y hexosas (Pérez, 2014).

En la tabla 2 se explican algunos de los métodos principales en la extracción de aceites, dando a entender las ventajas y desventajas de estos.

Tabla 2. Métodos de extracción de aceites

Método	Compresión de semilla	Extracción con disolventes	con Fluidos súpercríticos
Descripción	Se usa una prensa hidráulica a Temperatura ambiente	Método Soxhlet empleando n-hexano	Uso de dióxido de carbono Presión óptima = 480 kPa T= 80 °C
Ventajas	Ecológico, sencillo y rápido	Favorece características funcionales y estabiliza la emulsión	Elevada pureza y alto contenido de ácido α -linoléico/ácido linoleico
Desventajas	Bajo rendimiento en obtención de aceite	Pérdida de antioxidantes y problemas medioambientales	Alto coste y peligro debido a la presión con la cual se trabaja.

PARTE EXPERIMENTAL

Posterior a la revisión bibliográfica, se adquirió la semilla de chía en un mercado local de Tula, Hgo. Para la extracción de mucílago se hidrató la semilla, 40 g, con agua desionizada y se agitó por 20

min, posteriormente se depositó en una malla metálica y se presionó para favorecer la separación de mucílago y semillas, se secó en un horno a 95°C, y finalmente se pesó el mucílago obtenido. La semilla remanente se trituro para llevar a cabo la extracción del aceite mediante un equipo Soxhlet y se utilizó etanol como disolvente, la extracción se llevó a cabo con 10 ciclos.

Para el siguiente método de extracción del aceite de chía, la semilla se secó en un horno a 95 °C por dos horas. Posteriormente se trituro con un mortero y se repitió el proceso de secado. La muestra se pesó, 40 g, y se colocó en el equipo de Soxhlet, se emplearon 200 mL de etanol anhidro, la temperatura de extracción se fijó a 80 °C y se completaron 10 ciclos de extracción, el etanol se recuperó destilando la mezcla aceite-etanol. Posteriormente se incrementó la temperatura a 95 °C para el proceso de desgomado y separación de trazas de agua.

La caracterización del aceite crudo se realizó por espectroscopia de infrarrojo empleando un equipo Nicolet 6700 FT-IR Spectrometer Thermo Scientific. Para el análisis de composición química del aceite de chía se empleó un equipo de cromatografía de gases-masas (GC/MS) Agilent Technologies 5977A MSD, la muestra previamente se transesterificó con una mezcla metóxido sodio-metanol, (Peiretti y Gai, 2009).

RESULTADOS

A lo largo del proceso de pretratamiento se logró obtener una separación parcial del mucílago con la semilla dado que después de hidratarse en diversas ocasiones se logró apreciar la formación de mucílago, dicha presencia fue disminuyendo poco a poco, aunque no en su totalidad. Las extracciones nos arrojan un rendimiento del 24.77 % del aceite de chía, calculando con una base en la masa inicial de semilla de chía y la masa final de aceite purificado. La cantidad aproximada obtenida de aceite en el proceso fue de 10 mL, figura 3A. El rendimiento del aceite de chía de acuerdo al método de filtrado e hidratación fue de 14.63% lo que refleja una leve diferencia entre ambos pretratamientos, en comparación con el método de secado y que este presenta un mayor rendimiento, figura 3B, dado que el procedimiento sin hidratar da muy bajo rendimiento, 1.83 %.

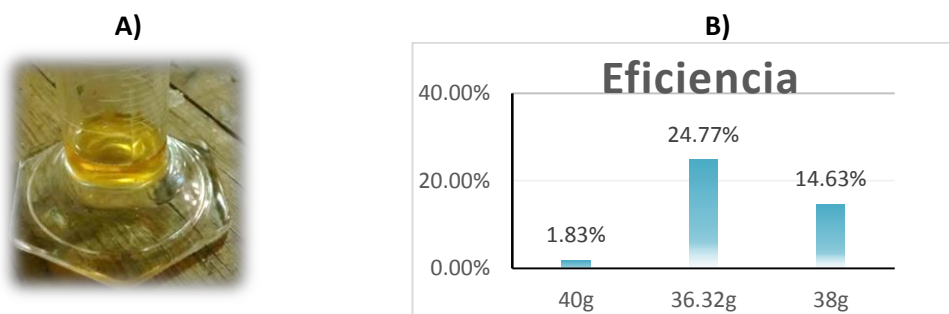


Figura 3. Aceite crudo de chía (A) y comparación de eficiencia en extracción del aceite en los pretratamientos (B).

El mucílago obtenido de la semilla de chía y después de secar 3 h mediante la radiación solar se obtuvo una forma de hojuelas, posteriormente se realizó un secado en un horno a 95 °C por un tiempo de 30 min, se obtuvo un peso de mucílago de 3.23 g, figura 4.



Figura 4. Proceso de secado del mucílago (A) y producto final (B)

La caracterización por espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier de la muestra de aceite de chía cruda se muestra en la figura 5. Se observan bandas en 717, 1101, 1165, 1244, 1398, 1462, 1655, 1743, 2856, 2927, 2962, 3012 cm^{-1} , este espectro obtenido es similar al que presenta Timilsena (2017), para un aceite obtenido de un aceite de chía (*Salvia Hispanica L.*). La banda de 3012 cm^{-1} corresponde al estiramiento del enlace C-H cis-olefina del fragmento $-\text{HC}=\text{CH}-$. La posición de esta banda depende del número de dobles enlaces C=C presentes en el aceite. La banda intensa en 1743 cm^{-1} es debido al estiramiento del grupo carbonilo C=O del grupo funcional éster de los ácidos grasos. Una banda de 1655 cm^{-1} es debido al estiramiento de los enlaces olefinicos C=C de las cis-olefinas, esta banda indica el alto grado de insaturación en el aceite de chía. Las bandas en el intervalo de 1480 – 1350 cm^{-1} corresponden a la combinación de diferentes modos de deformación de los grupos funcionales metileno y metilo. La banda 1165 y 1101 cm^{-1} pueden ser causados por la presencia de éteres glicerodiaciles en los aceites (Timilsena, 2017), especialmente la banda 1165 cm^{-1} es un estiramiento asimétrico de los enlaces C-C(=O)-O y O-C-C, mientras que la banda 1101 cm^{-1} está asociada con los estiramientos simétricos C-O-C de los triglicéridos. La banda en 717 cm^{-1} se le atribuye al balanceo de los enlaces CH_2 (metileno) en las cis-olefinas disustituidas. Entre el intervalo de 2300 – 2400 cm^{-1} se observan dos bandas posiblemente atribuidas a la presencia de mucílago de la chía.

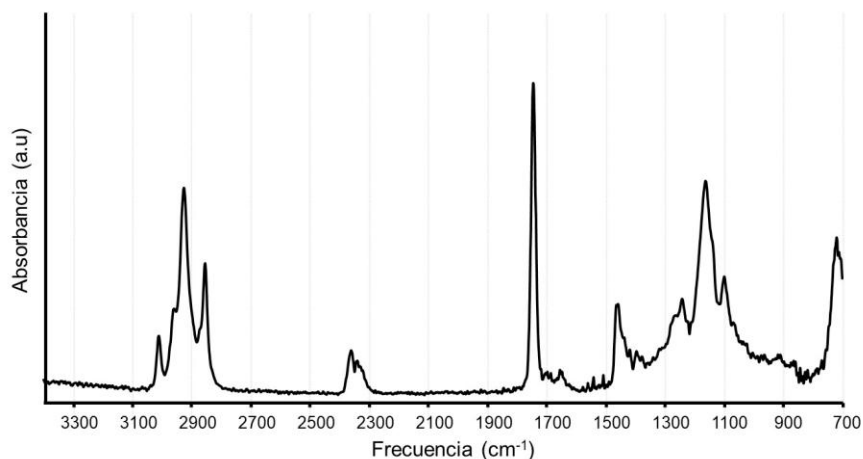


Figura 5. Espectro de infrarrojo del aceite de chía cruda.

Los resultados del análisis de cromatografía de gases masas del aceite transesterificado se muestra en la figura 5. El componente principal aparece en el tiempo de retención de 63.29 min que con base a su patrón de fragmentación corresponde al metil ester del ácido α -linolénico (omega-3), el siguiente en abundancia es el metil ester del ácido tridecanoico con un tiempo de retención de 56.82 min, posteriormente en el tiempo de retención de 64.01 min es el metil tetradecanoato, además en menor abundancia con un tiempo de retención de 65.76 min es el metil ester del ácido linolénico (ω -3). Se encontraron trazas de metil ester del ácido decanoico, y metil ácido dodecanoico.

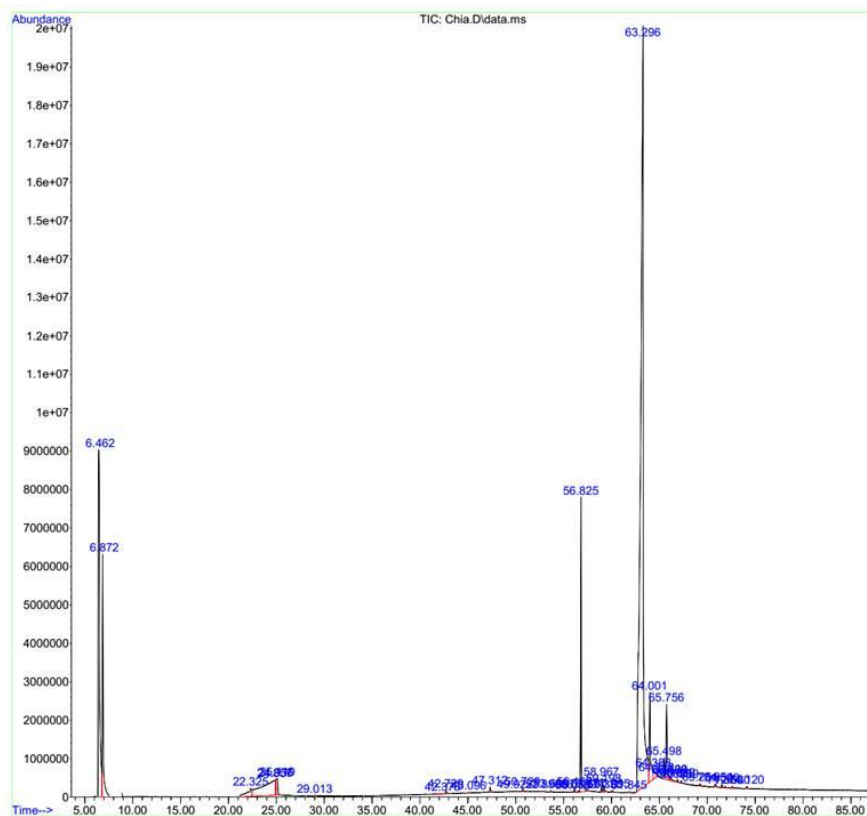


Figura 4. Cromatograma del aceite de chía transesterificado.

CONCLUSIONES

Se extrajo aceite de chía por diversos pre-tratamientos aplicados a la semilla, siendo el método de secado el más eficaz para dicha extracción.

Se encontró que el agua presente en la semilla durante la extracción con etanol, tiene un efecto en las características del producto final, aceite de chía. Por lo cual se puede argumentar que al disminuir el contenido del agua con tratamientos de secado en la semilla o utilizar alcohol anhidro mejora la apariencia del aceite logrando obtener un rendimiento del 24.77 % de aceite de chía, además de obtener 3.23 g de mucílago. El rendimiento del aceite puede variar de acuerdo al pretratamiento utilizado, puesto que si este no logra la eliminación del mucílago las propiedades fisicoquímicas y eficiencia se ven afectadas. Los análisis por espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier constataron la presencia de los aceites olefínicos, corroborado con los patrones de fragmentación de la espectrofotometría de masas con la alta abundancia en el ácido α -linolénico.

BIBLIOGRAFÍA

1. G. Guzmán Elizondo. "Extracción y caracterización fisicoquímica del mucílago de la semilla de Chan (salvia Hispánica L.) para su aplicación como aditivo nutritivo y espesante en la elaboración de una bebida en polvo" (tesis de Grado). Universidad de San Carlos Guatemala, Guatemala. , 2014
2. L. Ugena Díaz, "Aceite de Chía. Beneficios e inconvenientes de su consumo" (Tesis de Grado), Universidad Complutense, Madrid, España. 2015.
3. F. González Jiménez, Caracterización de compuestos fenólicos presentes en la semilla y aceite de chía (salvia Hispánica L.), mediante electrolisis capilar (Tesis Maestría), Instituto Politécnico Nacional, México, D.F. 2010.

4. M. Capitani, "Caracterización y funcionalidad de subproductos de chía" (salvia Hispánica L.) Aplicación en tecnología de alimentos (Tesis Doctoral), Universidad Nacional De La Plata, Argentina. 2013.
5. Y. P. Timilsena, J. Vongsivut, R. Adhikari, y B. Adhikari, "Physicochemical and thermal characteristics of Australian chia seed oil". *Food Chemistry*, Vol. 228, 2017, pp. 394–402.
6. P.G. Peireti & F. Gai, "Fatty acid and nutritive quality of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds and plant during growth", *Animal Feed Science and Technology*. Vol. 148, 2009, pp. 267–275.
7. K. Vinayak, J. Sanchit, K. Faizan, y T. Vijayakumar, "Degumming of *Pongamia Pinnata* by Acid Water Degumming Methods". *International Journal of Chem. Tech Researches*, Vol. 8, 2014, pp. 3969-3978.

SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE NIQUEL SOPORTADAS EN ZEOLITA TIPO Y CON RELACION SI/AL = 40

Gabina Yaneth Santiago Sánchez^{1*}, Víctor Soto¹, John Florez², Karina V. Chávez¹.

¹Depto. de Química, C.U.C.E.I., Blvd. Marcelino García Barragán #1451, C.P44430, Guadalajara, Jal., México.

²Posgrado en Ciencia de Materiales C.U.C.E.I., Blvd. Marcelino García Barragán #1451, C.P44430, Guadalajara, Jal., México.

RESUMEN

Las zeolitas son materiales de gran interés que poseen propiedades muy útiles para la ciencia y la tecnología, tales como intercambiadores catiónicos, materiales para remoción [1,2], soportes catalíticos de metales de transición en forma de nanopartículas entre otros [3]. La relación silicio / aluminio en una Zeolita determina su contenido catiónico. Mientras mayor sea esta relación, es decir menos átomos de aluminio haya presentes, habrá menos cationes intercambiadores disponibles en su estructura [4].

El método de síntesis de las nanopartículas de níquel determina, su tamaño, morfología y como consecuencia sus propiedades finales [5]. En este trabajo utilizamos el método del intercambio iónico como paso previo a la reducción y síntesis final de las nanopartículas de níquel. El proceso de intercambio iónico lo realizamos a diferentes concentraciones de solución de nitrato de níquel. Con esto obtenemos la dependencia que hay entre la cantidad de níquel intercambiada en función de la concentración de la solución intercambiante. La relación Si/Al en la zeolita "Y", que utilizamos es de 40. La solución intercambiante más concentrada representa aquella que teóricamente intercambiaría todos los cationes disponibles. Se prepararon diversas soluciones a partir de la más concentrada, diluyendo cada una. Tomando la primera sin diluir la consideramos al 100%, y a partir de ahí las diluídas, 50%, 25%, y 12.5%. Se procedió a intercambiar muestras de 0.5 gramos de zeolita en 40 mL de solución intercambiante. Se cuantifico la cantidad de níquel intercambiada en cada caso. Después de lavar y secar las muestras de zeolita intercambiada se procedió a su reducción, mediante flujo de hidrogeno gas a razón de 1mL por segundo y a 200°C de temperatura. Se reporta la morfología y el tamaño de las nanopartículas en función de la solución intercambiante.

INTRODUCCIÓN

La síntesis de nanopartículas de metales de transición, es uno de los tópicos mas estudiados en los últimos años. Esto es debido a las propiedades especiales que muestran este tipo de materiales. Dentro del conjunto de las nanopartículas encontramos un subconjunto que es llamado "cúmulos". Estos cúmulos tienen dimensiones de hasta 100 micrómetros como las nanopartículas pero además presentan la característica de estar estructurados. Esta estructura particular es la que les confiere las propiedades especiales. Estas propiedades son específicas y para un mismo material puede presentar diferente tamaño, es decir, por ejemplo, si un material presenta propiedades catalíticas y además propiedades luminiscentes, este material presentará un tamaño de cúmulo para la catálisis y otro tamaño para la luminiscencia. Es por eso que el interés principal de este trabajo es encontrar las condiciones que determinan el tamaño y forma de las nanopartículas en el proceso de la síntesis. Para esta síntesis se eligió el método de intercambio iónico, con posterior reducción mediante flujo de hidrógeno. De esta manera pretendemos controlar la cantidad de níquel intercambiado en la zeolita en función de la concentración de la solución intercambiante. El segundo paso de control se centrará en la temperatura de reducción. Pretendemos entonces que variando la cantidad de níquel intercambiado y la temperatura de reducción usada podremos controlar el tamaño de las nanopartículas de níquel a sintetizar.

TEORÍA

El intercambio iónico es una permutación de cationes metálicos removibles y disponibles en un sólido con los cationes que se encuentran en una solución acuosa. Los intercambiadores iónicos son materiales solidos insolubles que contienen en su estructura cationes o aniones intercambiadores. Existen intercambiadores iónicos a base de resinas para remover los cationes de calcio y magnesio del agua. El fenómeno del intercambio se produce al poner en contacto el sólido intercambiador y

una solución acuosa que contiene a su vez el otro catión intercambiante. La zeolita posee cationes intercambiables, como lo son en nuestro caso de Hidrógeno, Sodio ó Amonio. Este intercambio se lleva a cabo hasta alcanzar un equilibrio dinámico entre la concentración del catión en la fase sólida y la concentración del mismo en la fase acuosa.

El proceso de reducción se lleva a cabo mediante flujo de hidrógeno, pero también se puede usar, propano, butano e incluso savia de nopal. El hidrógeno molecular es el agente reductor para un catión determinado. Una vez que el hidrógeno se convierte en un catión ocupa el sitio inicial de intercambio y el catión reducido a metal, queda libre como un "gas", y entonces migra a buscar un sitio más favorable.

Para la cuantificación del catión metálico en solución se suelen utilizar los reactivos que forman complejos con dichos cationes. Los más empleados son compuestos orgánicos que tienen varios grupos de donadores de electrones capaces de formar enlaces covalentes coordinados con los iones metálicos, Los iones metálicos reaccionan con donadores de electrones formando compuestos de coordinación o complejos, la especie donadora (ligando) debe tener por lo menos un par de electrones no compartidos para formar el enlace los más comunes son 2, 4 ó 6. La especie que se forma puede tener carga positiva, negativa o neutra. Los métodos de titulación basados en estas reacciones se llaman métodos complejométricos, se ha utilizado sobre todo la complejometría con compuestos llamados quelatos que son complejos cíclicos de un metal y un ligando o quelante.

PARTE EXPERIMENTAL

Solución intercambiante:

Para el intercambio iónico se colocó 0.5g de zeolita "Y" (Si/Al =40) en 40 ml de la solución intercambiadora de nitrato de níquel $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ con una concentración de 1.845×10^{-3} M la cual representa el 100% de intercambio teórico calculado de nitrato de níquel, realizandó el intercambio en menores concentraciones nitrato de níquel con una concentración 9.225×10^{-4} M la cual representa el 50% de intercambio teórico calculado, en concentraciones nitrato de níquel con una concentración 4.1625×10^{-4} M la cual representa el 25% de intercambio teórico calculado, y concentración nitrato de níquel con una concentración 2.306×10^{-4} M la cual representa el 12.5% de intercambio teórico calculado.

Se dejó reposar para el intercambio durante 72 horas sin agitación, para que se lleve a cabo por difusión solamente.

En la recuperación de la solución intercambiadora se retiró del frasco con una pipeta sin tomar muestra sólida de la zeolita, y se colocó en un nuevo frasco para su posterior cuantificación.

Cuantificación de solución intercambiante:

La valoración de la solución remanente se determinó por el método de volumetría de formación de complejos. Utilizando solución de EDTA para acomplejar el níquel presente en la solución remanente de la zeolita Y. Este método se utilizó para obtener la curva de concentración de níquel presente en la solución intercambiante.

Se tomó una alícuota de 10 ml de solución intercambiadora colocándola en un matraz volumétrico de 25 ml, se le adiciónó un buffer a $\text{pH} = 8$ $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ en agitación constante, se le añadió una pizca de indicador murexida, y se procedió a la titulación con EDTA.

En la adición del EDTA se observó una coloración naranja-rojiza y se colocó 1 ml de NH_3 para subir el pH de la solución observando una coloración amarilla y procediendo a la titulación con EDTA hasta un color azul-violeta.

Reducción mediante hidrógeno.

El sólido iónico se colocó en tubos de ensayo para la realización de lavados añadiendo agua destilada y se agitó para luego centrifugar las muestras, una vez centrifugado se retiró el sobrenadante, realizando más lavados colocando más agua destilada, agitando y centrifugando (se realizaron 7 lavados).

Una vez lavada la zeolita y dejándose en secado (en desecador) hasta la pérdida de agua en la muestra. La zeolita intercambiada ya seca, se colocó en viales. Posteriormente se procedió a reducir con hidrogeno gas estas muestras a temperatura de 200°C durante dos horas.

Preparación de la muestra:

La muestra de zeolita intercambiada se colocó en un reactor de vidrio un forma de “U”, con un diámetro nominal de 5 mm. De un lado se colocó un tapón de fibra de cuarzo poroso y del otro lado 0.5g de zeolita intercambiada.

El reactor en forma de U se colocó en una mufla, donde, de lado derecho del mismo (contrario al tapón semiporoso de cuarzo) se conectó el flujo del hidrogeno a razón de $1\text{cm}^3/\text{seg}$ y del lado izquierdo la salida del flujo de hidrogeno.

RESULTADOS

La cuantificación de níquel por volumetría de complejos valora la cantidad de Níquel intercambiada en la zeolita. Los resultados de este intercambio se reportan en mg de Ni^{+2}/g de zeolita “Y” en relación $\text{Si}/\text{Al}=40$ y se muestran en la tabla 1. Podemos observar que a mayor concentración de solución hay mayor intercambio de iones Ni^{+2} , es decir existe más intercambio en concentraciones altas que a menores concentraciones. Presentandose el fenómeno de intercambio en todas las concentraciones.

Intercambio (mg Ni/g de zeolita)	Concentración molar de níquel
8.99	1.845×10^{-3} M
4.49	9.225×10^{-4} M
1.63	4.612×10^{-4} M
1.23	2.306×10^{-4} M

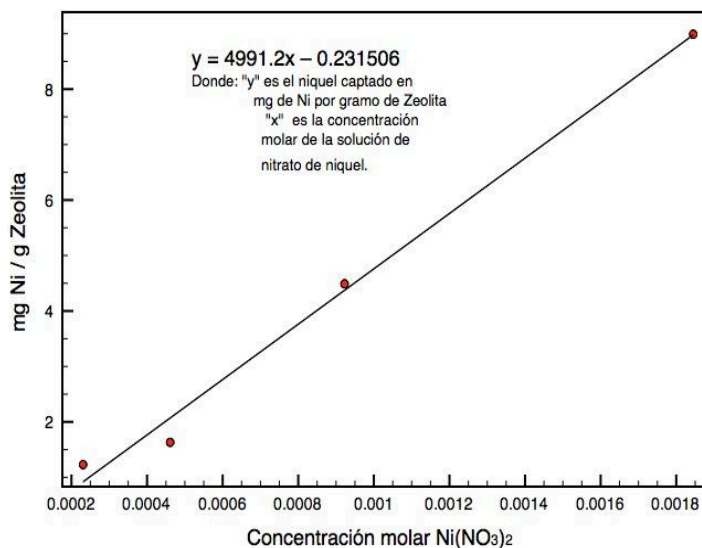


Tabla 1. Resultados obtenidos de la cuantificación de níquel en titulación del método complejométrico.

En la figura 1, podemos apreciar los valores de la tabla 1, en forma gráfica. En el eje de las abcisas tenemos la concentración de la solución intercambiante. En el eje de las ordenadas tenemos la cantidad intercambiada en miligramos de níquel por cada gramo de zeolita. Esta gráfica nos muestra que los valores están relacionados de manera lineal en estos intervalos.

Ultravioleta Visible de reflectancia difusa (UV-VIS)

En la figura 2, se muestran los espectros de las muestras de zeolitas intercambiadas con níquel y no reducidas. En (a), (b), (c), (d), se muestra cada uno de los espectros intercambiados a la concentración que representa el intercambio al 100%, al 50%, al 25%, y al 12.5% respectivamente. Al comparar los espectros podemos apreciar que son muy similares entre si, lo cual nos sugiere que la cantidad de níquel intercambiado en ese orden, no es muy significativa como para promover un cambio en el espectro.

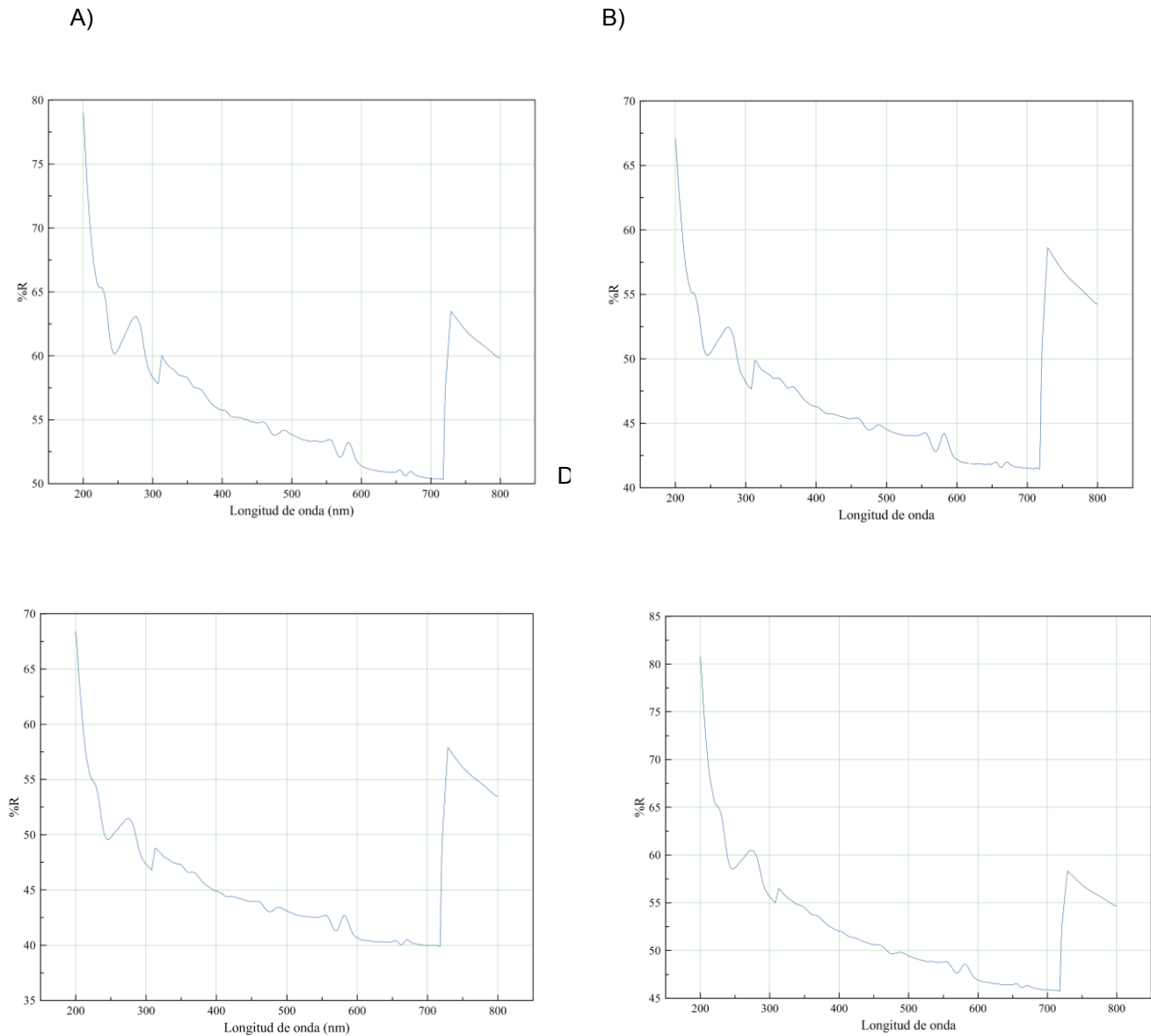


Figura 2. A) Espectro de UV-VIS Reflectancia

Difusa de la zeolita "Y" a una concentración que nos daría un 100% de intercambio iónico teórico, sin reducir. B) Espectro de UV-VIS Reflectancia Difusa de la zeolita "Y" a una concentración que nos daría un 50% de intercambio iónico teórico, sin reducir. C) Espectro de UV-VIS Reflectancia Difusa de la zeolita "Y" a una concentración que nos daría un 25% de intercambio iónico teórico, sin

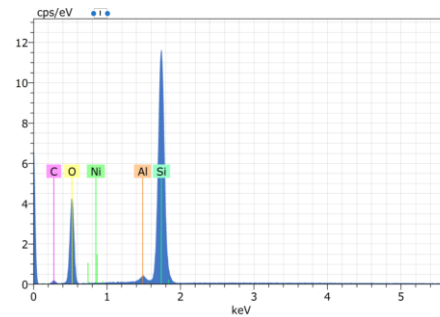
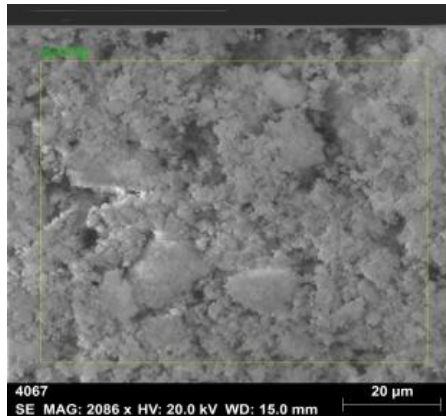
reducir. D) Espectro de UV-VIS Reflectancia Difusa de la zeolita "Y" a una concentración que nos daría un 100% de intercambio iónico teórico, sin reducir.

Microscopía electrónica de barrido (SEM)

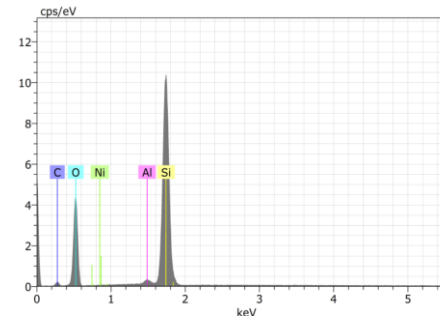
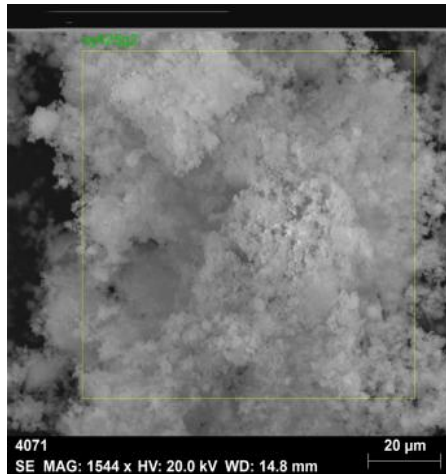
Se observan las micrografías de las 4 muestras caracterizadas por la técnica (SEM), observando en las distintas concentraciones del método de intercambio iónico y reducciones con Hidrogeno la morfología.

Se encontró en la micrografía de la zeolita y Si/Al =40 tomada a escala 20µm, localizando trazas para la identificación de níquel metálico en la composición química sin la formación de cúmulos metálicos de níquel.

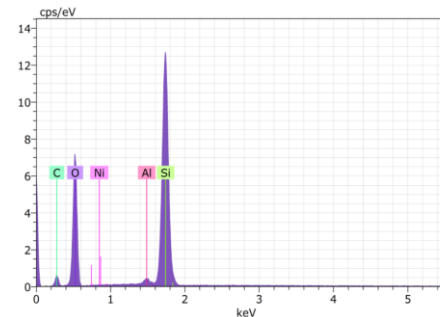
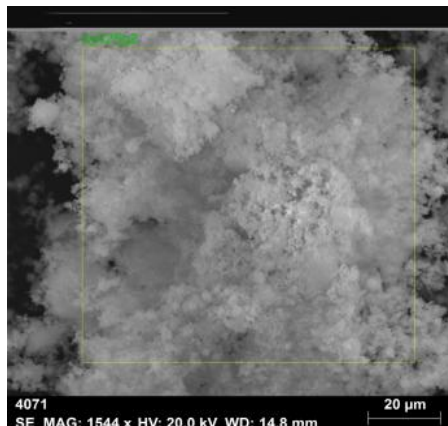
A)



B)



C)



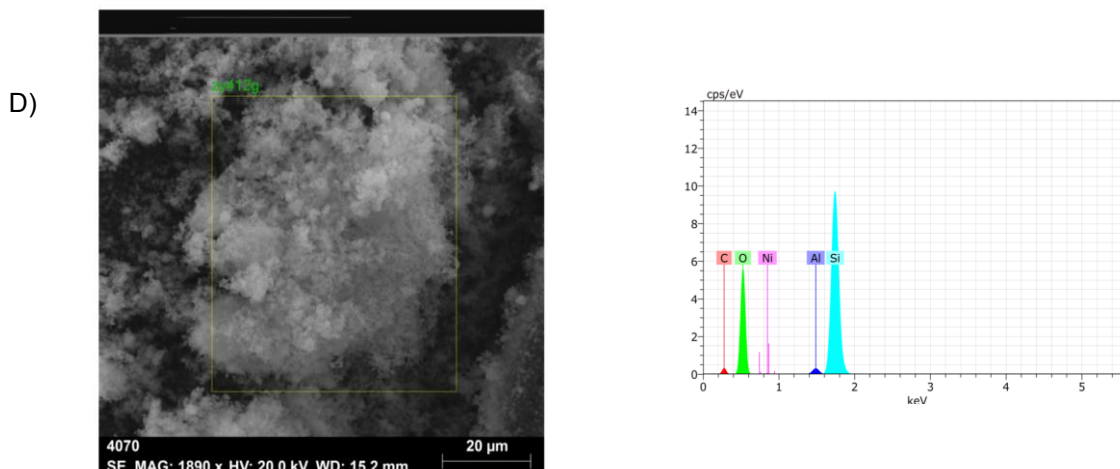


Figura 2. A) Micrografía de la zeolita Y Si/Al=40 al 100% de solución de nitrato de níquel tomada en la escala de 20µm. B) Micrografía de la zeolita Y Si/Al=40 al 50% de solución de nitrato de níquel tomada en la escala de 20 µm. C) Micrografía de la zeolita Y Si/Al=40 al 25% de solución de nitrato de níquel tomada en la escala de 20 µm. D) Micrografía de la zeolita Y Si/Al=40 al 12.5% de solución de nitrato de níquel tomada en la escala de 20µm.

CONCLUSIONES

Existe intercambio iónico de níquel a la zeolita “Y”, tal como se puede corroborar por el método de volumetría, complejométrico y por los resultados de el análisis de EDS, mediante SEM.

Sin embargo parece ser que la cantidad es muy pequeña y con el SEM, no pudimos observar ninguna formación de nanopartícula. Solamente la identificación de trazas.

De acuerdo a la gráfica de intercambio iónico, podemos apreciar que hay una relación directa y lineal entre la concentración de la solución acuosa y la captación del níquel de parte de la zeolita. La “K” de partición propuesta es de $y = 4991.2x - 0.231506$.

BIBLIOGRAFÍA

1. Prashanth Reddy Buchireddy et al. Energy Fuels. 24, 2707-2715
2. Arturo J. Hernandez-Maldonado y Ralph T. Yang (2004), Ind. Eng. Chem. Res. 43, 1081-1089 3.- Syeluing Wong et al. (2016), Ind. Eng. Chem. Res. 55, 2543-2555
4. Lesley Smart. Elaine Moore. (2000), Química del estado sólido. Una introducción. Editorial Addison Wesley iberoamericana. México
5. Anna Penkova et al. (2007), J. Phys. Chem. C. 111, 8623-8631

CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y QUÍMICA DEL SUELO EN PARCELAS AGRÍCOLAS

Juan Luis Mora Rosas, María Alcalá De Jesús, María Salud Rosas Murillo, Juan Carlos González Cortés

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Biología. Av. Francisco J. Mújica. Col. Felicitas del Río, Morelia, Mich. E-mail: jluis_789@hotmail.com

RESUMEN

La caracterización de las propiedades físicas y químicas de un suelo permite determinar si éstas se presentan de forma benéfica o como limitantes en las actividades agrícolas. La caracterización se consigue mediante el análisis del suelo y se expresa en forma de valores. El objetivo fue caracterizar las propiedades físicas: textura y densidad aparente, y las propiedades químicas: pH y capacidad de intercambio catiónico (CIC) en dos parcelas agrícolas localizadas en Álvaro Obregón y Tarímbaro, Mich. Se realizaron cortes de suelo de 50 cm de profundidad por ser ésta a la que se establecen la mayoría de los cultivos. Las muestras de suelo se tomaron cada 25 cm de espesor. La textura se realizó con el método de *Bouyoucos*, la densidad aparente (D.A.) con parafina, el pH en relación agua: suelo 1:2.5 y la CIC a partir de la extracción con acetado de amonio. La textura limita la actividad agrícola por su alto contenido de arcilla (55.20%) que hace pesado al suelo, dificultando el trabajo del agricultor si no cuenta con las herramientas adecuadas; la D.A. alta (1.85 g cm^{-3}) indica que en el suelo hay compactación y disminución de los poros, lo que influye en la capacidad de infiltración y el consecuente anegamiento en periodos de precipitación intensa. Para ambas parcelas, el pH fue ligeramente ácido (5.96) y la CIC ($43.28 \text{ cmol kg}^{-1}$) alta, condiciones favorables que promueven una buena retención y disponibilidad de nutrientes para las plantas.

INTRODUCCIÓN

El suelo es la capa superficial de la corteza terrestre compuesta por líquidos, sólidos y aire que permiten el establecimiento y desarrollo de organismos vegetales mediante los nutrientes que les brinda. La caracterización de las propiedades textura, D.A., pH y CIC permiten determinar si estas se presentan de manera benéfica o como limitantes agrícolas. Si las propiedades anteriormente mencionadas son favorables, el suelo tendrá buena fertilidad. De acuerdo con Jordan (2006) los altos contenidos de arcilla en el suelo hacen que la textura sea pesada y difícil de trabajar para el agricultor. La D.A. en valores superiores a 1.5 g/cm^3 indica alto grado de compactación y poca capacidad infiltración del suelo, lo cual provoca anegamiento en temporada de lluvias. La CIC en valores altos y el pH ligeramente ácido promueven una buena fertilidad y productividad del suelo. En los municipios de Álvaro Obregón (AO) y Tarímbaro (TA), Mich. no se tiene registro de trabajos de este tipo, motivo por el cual, se requiere caracterizar las propiedades físicas y químicas en parcelas de uso agrícola para conocer el comportamiento de dichas propiedades. Se determinaron los siguientes parámetros de laboratorio: textura (arcilla), D.A., pH y CIC de 0-50 cm de profundidad del suelo para ambas parcelas. El pH ligeramente ácido (5.96) y la CIC ($43.28 \text{ cmol kg}^{-1}$) alta indican buena fertilidad del suelo. La textura pesada (55.20% arcilla) dificulta el trabajo del agricultor. La D.A. alta (1.85 g cm^{-3}) indica compactación, pérdida de porosidad, disminución de la capacidad de infiltración y alta probabilidad de anegamiento del suelo en temporadas lluviosas.

DESCRIPCIÓN DEL ÁREA

El área de estudio se ubica en los Mpios. de Álvaro Obregón y Tarímbaro Mich. a 20 km al noreste de Morelia a una altitud de 1860 m (Figura 1). El clima es templado subhúmedo con lluvias en verano con precipitación pluvial anual de 716 mm (SMN de México). El tipo de suelo es Chernozem y Vertisol (DETENAL, 1978). La geología es de tipo ígnea intrusiva ácida y toba andesítica (INEGI, 2010). El uso actual del suelo es agrícola y forestal. La vegetación es de pastizal inducido, matorrales y nopaleras (INEGI, 1998).

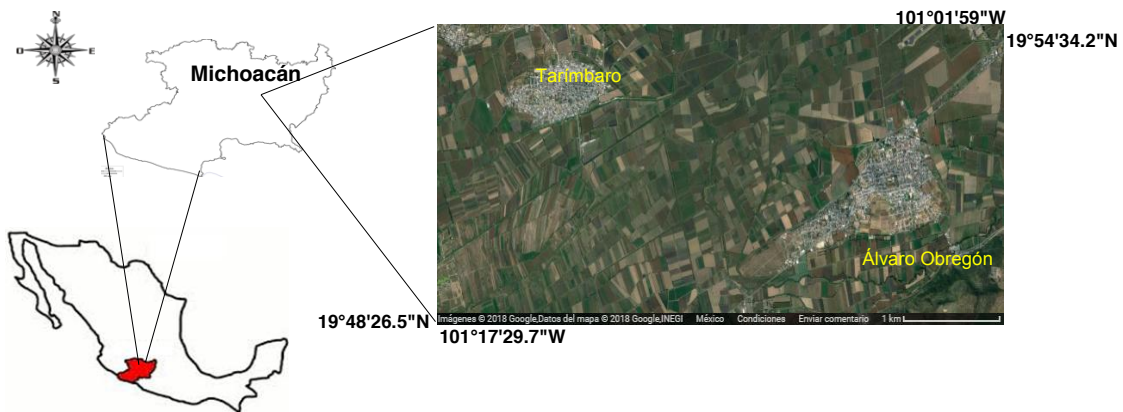


Figura 1. Localización de los sitios de estudio.

METODOLOGÍA

Se realizaron dos perfiles de suelo de 50 cm de profundidad y se tomaron muestras de suelo cada 25 cm; se secaron a la sombra, se trituraron y se tamizaron en malla de 2 mm de diámetro. A las muestras de suelo se les determinaron las propiedades físicas: textura por el método de Bouyoucos y D.A. con parafina, y propiedades químicas: pH en agua destilada relación 1:2.5 y CIC mediante la saturación de los sitios de intercambio con acetato de amonio (*NOM-023-RECNAT-2001*).



Figura 2. Ubicación de los sitios de muestreo

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de Textura(arcilla) y densidad aparente (D.A.) se muestran en el Cuadro 1. Los resultados de pH y CIC se presentan en el cuadro 2.

En el caso de las propiedades físicas la D.A. es alta y el contenido de arcilla mayor a 50% en el total del espesor para ambas parcelas, provocando que sean suelos muy compactos y complicados de labrar para los campesinos.

En los dos sitios el pH va de ligeramente ácido a ácido y la CIC es alta en el total del espesor, lo que de acuerdo con Tapia (2005) indica alto grado de fertilidad de los suelos.

Cuadro 1. Propiedades físicas de los suelos

Sitio	Prof.	D.A.	Clase	Textura (arcilla)	Sitio	D.A.	Clase	Textura (arcilla)
(AO)	cm	$g\ cm^{-3}$		%	(TA)	$g\ cm^{-3}$		%
1	0-25	1.79	alta	56.16	2	1.79	alta	50.8
1	26-50	1.94	alta	59.69	2	1.88	alta	54.16

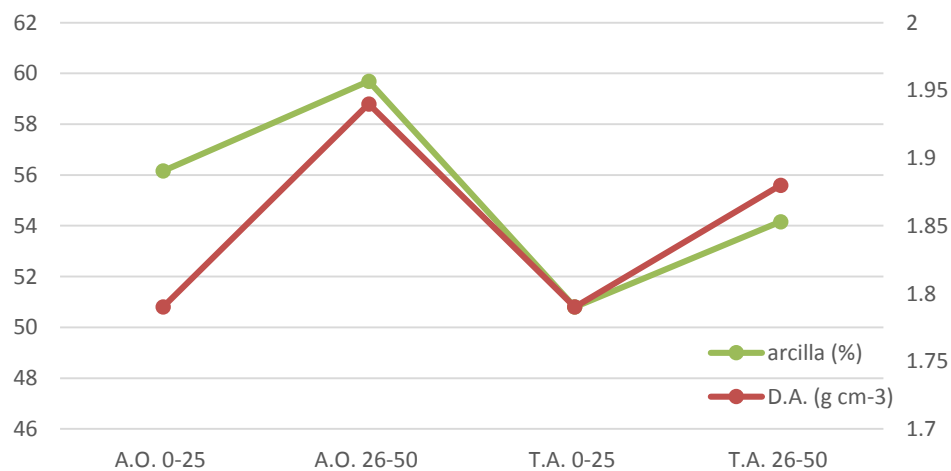
Sitio 1 Álvaro obregón (AO); Sitio: 2 Tarímbaro (TA); Prof: profundidad; D.A: densidad aparente

Cuadro 2. Propiedades químicas de los suelos

Sitio	Prof.	pH	Cl	CIC	Cl	Sitio	pH	Cl	CIC	Cl
(AO)	cm			$cmol\ kg^{-1}$		(TA)			$cmol\ kg^{-1}$	
1	0-25	6.47	la	48.32	Alta	2	6.32	la	39.43	Alta
1	26-50	5.75	ac	47.75	Alta	2	5.30	ac	37.65	Alta

Sitio 1 Álvaro obregón (AO); Sitio: 2 Tarímbaro (TA); Prof: profundidad; Cl: clase; CIC: capacidad de intercambio catiónico; ac: ácido; la: ligeramente ácido

En la figura 3 se aprecia una relación directa entre la textura (arcilla) y D.A. esto significa que a mayor contenido de arcilla aumenta la D.A. pero se reduce la porosidad y disminuye la capacidad de infiltración de los suelos. La figura 4 muestra que el pH ácido y ligeramente ácido favorecen la alta concentración la CIC lo cual favorece la fertilidad de los suelos.



Sitios de estudio y profundidades del suelo (cm)

Figura 3. Relación contenida de arcilla – D.A. de los suelos para ambas parcelas

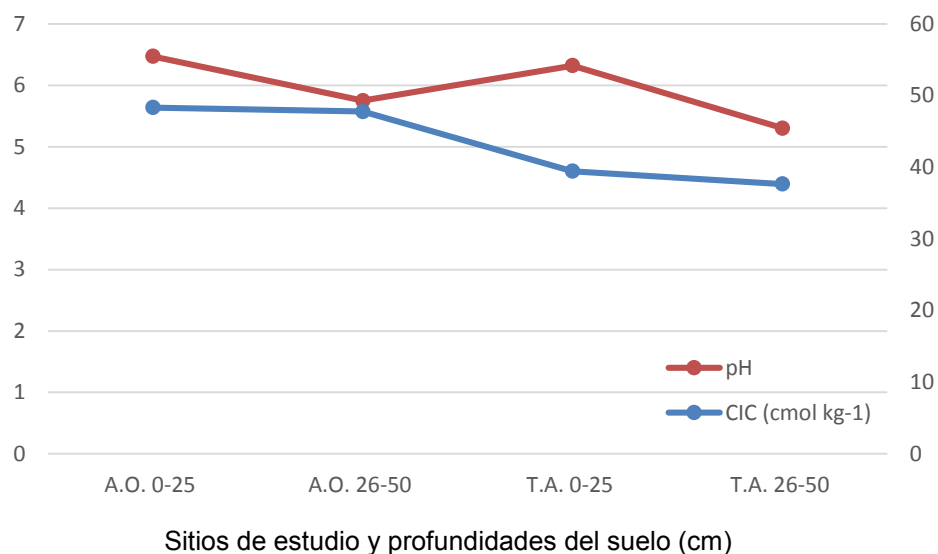


Figura 4. Relación pH – CIC de los suelos para ambas parcelas

CONCLUSIONES

Para ambas parcelas, el pH ácido y ligeramente ácido y la CIC alta, favorecen la buena concentración y disponibilidad de nutrientes para las raíces de las plantas. Los altos contenidos de arcilla hacen que la textura del suelo pesada complicando el trabajo agrícola si no se dispone de la maquinaria adecuada. La D.A. alta indica compactación, reducción de la porosidad, disminución de la capacidad de infiltración y genera altas probabilidades de inundaciones para los suelos en temporadas lluviosas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cuanalo, C. H. 1990. Manual para la Descripción de Perfiles de Suelos en el Campo. 3ª Ed. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México, 40 p.
2. INEGI. 2010. Carta geológica. E14A13. Esc. 1:50 000. Secretaría de programación y Presupuesto. México.
3. INEGI. 2010. Carta edafológica. E14A13. Esc. 1:50 000. Secretaría de programación y Presupuesto. México.
4. INEGI. 2010. Carta uso del suelo. E14A13. Esc. 1:50 000. Secretaría de programación y Presupuesto. México.
5. Jordán L., A. 2006. Manual de Edafología. Universidad de Sevilla. Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola. 1ª Ed. España. 143 pp.
6. NOM (Norma Oficial Mexicana. Diario Oficial de la Federación). 2003 (23 de abril) NOM-023-SEMARNAT-2001. 73 p.
7. Tapia V., L. M., H. R. Rico P., I. Vidales F., *et al.* 2005. Consideraciones prácticas para el manejo del nutriregio del aguacate en Michoacán. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Pacífico Centro Campo experimental Uruapan. 1ª Ed. Michoacán, México. 30 p.
8. <http://smn.cna.gob.mx/es/> (Fecha de consulta: 29/04/18).

EVALUACION DE NANOPARTICULAS DE PLATA OBTENIDAS POR METODO DE SOL GEL SOBRE EL CRECIMIENTO DE *ESCHERICHIA COLI*

Erika Toledo Trejo, Claudia Vela Coronel

Universidad Tecnológica Fidel Velázquez.

RESUMEN

Se sintetizaron coloides nanoparticulados de plata por el método sol-gel, a partir de la reducción de nitrato de plata por etilenglicol en un proceso denominado poliol, el crecimiento se controló mediante estabilización estérica del coloide con Polivinil pirrolidona, las nanopartículas mostraron mediante espectrometría de fluorescencia mostrando el pico de resonancia de plasmón superficial entre los 450-550nm el cual indica la formación de las nanopartículas de plata. Se realizaron pruebas in vitro con *Escherichia coli* incorporando las nanopartículas en el medio de crecimiento. Se encontró que las nanopartículas inhibieron el crecimiento microbiano reduciendo de 4.1×10^{12} del grupo control a 8.5×10^5 UFC en el grupo experimental, esta capacidad de las nanopartículas de plata obtenidas pudieran ser usadas como desinfectantes.

INTRODUCCIÓN

Una infección nosocomial es aquella contraída por el paciente durante su tratamiento o estancia dentro de un hospital u otro centro sanitario y que dicho paciente no tenía ni estaba incubando en el momento de su ingreso, además es una de las principales causas de defunción y de aumento de la morbilidad en pacientes hospitalizados. En México, se calcula que se producen anualmente 450 mil casos de infecciones nosocomiales.[1,2,3]

Un estudio realizado en 895 pacientes de 254 UCI (Unidad de Cuidados Intensivos) en México encontró que 23.2% de éstos tenía una infección nosocomial. La neumonía fue la infección más común (39.7%), seguida de la infección urinaria (20.5%), la de herida quirúrgica (13.3%) y la del torrente sanguíneo (7.3%) teniendo como principales bacterias clínicas la *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. [1,2,3]

La *Escherichia coli* causa infecciones que pueden conducir al síndrome urémico hemolítico (HUS), caracterizado por anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia y daño renal y algunos de sus síntomas son los calambres abdominales y la diarrea, que puede progresar en algunos casos a diarrea sanguinolenta (colitis hemorrágica). También puede haber fiebre y vómitos. El periodo de incubación varía entre tres y ocho días, con una mediana de tres a cuatro días. La mayoría de los pacientes se recuperan en el término de diez días, pero en un pequeño porcentaje de los casos (especialmente niños pequeños y ancianos) la infección puede conducir a una enfermedad potencialmente mortal, como el síndrome hemolítico urémico (SHU). [5]

Conforme a la NOM-045-SSA2-2005 para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de las infecciones nosocomiales, se han establecido programas de sanitización en hospitales públicos y privados para la reducción de riesgo por infecciones nosocomiales. Dichos programas tienen una actividad preventiva los cuales evalúan y promueven una buena atención de salud, aislamiento apropiado, esterilización, sanitización, entre otros. Específicamente dentro de la parte de sanitización para hospitales se utilizan productos que además de tener un alto nivel de toxicidad ya que están fabricados a base de sales cuaternarias de amonio, compuestos fenólicos, compuestos halogenados etc. dañan el medio ambiente y también pueden causar daños a la salud por las altas concentraciones que manejan.

Por otra parte las nanopartículas de plata han surgido como un interesante agente antibacteriano ya que recientes investigaciones que se enfocan en la búsqueda de nuevas alternativas para tratar infecciones que son provocadas por bacterias y virus demuestran que las nanopartículas de plata podrían utilizarse para enfrentar bacterias y virus que podrían incluso ser resistentes a antibióticos. Existen estudios en los que se han determinado el efecto que poseen las nanopartículas de plata en bacterias Gram positivas como Gram negativas e incluso la capacidad antiviral en el virus de inmunodeficiencia humana tipo 1. [2]

PARTE EXPERIMENTAL

Síntesis y caracterización de nanopartículas.

La síntesis de las nano partículas se realizó por calentamiento y agitación de etilenglicol a una temperatura fija de 125°C, posteriormente se adiciono una solución 1:1 de etilenglicol conteniendo AgNO₃ a 100mM y PVP (Polivinil Pirrolidona) a 100mM, la coloración de la solución de etilenglicol da el color característico amarillo que indica la formación de las nanopartículas de plata. El tiempo de adición experimental fue de una gota cada 30 segundos, la adición se hace de forma lenta para una mejor dispersión, el viro se obtuvo con 1 ml de solución principal.

La caracterización de las nanopartículas de plata para verificar la obtención de las mismas se muestra en la sección resultados en la Figura 1. El método de caracterización realizado fue por espectrometría de fluorescencia la cual es un tipo de espectroscopia electromagnética que analiza la fluorescencia de una muestra, se trata de utilizar un haz de luz -por lo general luz ultravioleta- que excita los electrones de las moléculas de ciertos compuestos y provoca que emitan luz de una menor energía, generalmente luz visible (aunque no necesariamente).

Pruebas in vitro

Las pruebas *in vitro* se hicieron inoculando el patógeno *Escherichia coli* en Agar de Levine con Eosina y Azul de Metileno el cual en el grupo experimental tenia agregado cada placa 1ml de las nanopartículas en concentración 100 mM de plata y en el grupo control negativo el medio no tenía nanopartículas. La bacteria se trabajó mediante el método de diluciones y se agregó sobre la superficie de las placas tanto en grupo experimental como en grupo control en mismas dosis y diluciones.

Una vez inoculados se dejaron en una incubadora por 48 horas a 37°C para poder determinar el número de unidades formadoras de colonias (UFC).

RESULTADOS

Se presenta la espectrometría de fluorescencia en la que el espectro muestra que entre los 450-500nm de longitud de onda se forma el pico característico de resonancia de plasmón superficial el cual indica la formación de las nanopartículas de plata.

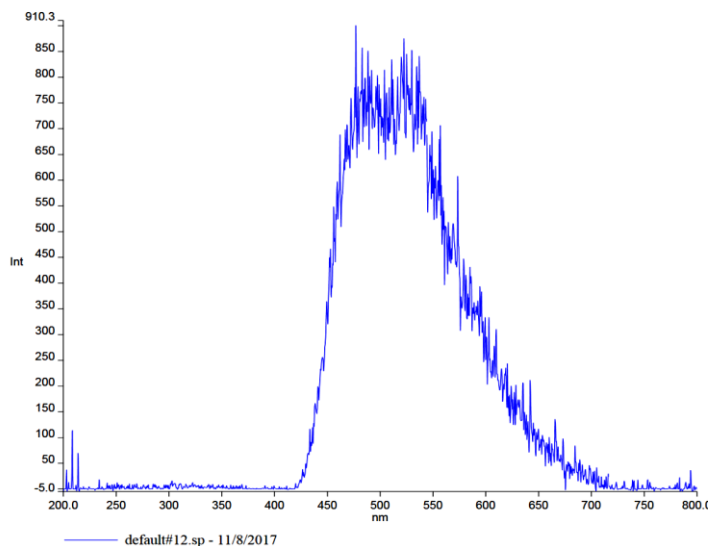


Figura 1. Espectrometría de fluorescencia de las nanopartículas sintetizadas por Sol-Gel.

En la tabla 1 se muestra la comparación de UFC de las cepas inoculadas con el patógeno del grupo que contenían las nanopartículas de plata y del grupo que no las contenían, se puede observar que hay notoria disminución de las UFC del grupo control contra el grupo experimental demostrándose que las suspensiones de nanopartículas de plata tienen un poder bactericida contra la bacteria *E. coli*.

DILUCIÓN	NÚMERO DE COLONIAS/ml (UFC) EN GRUPO CONTROL	NÚMERO DE COLONIAS/ml (UFC) EN GRUPO EXPERIMENTAL
10^{-7}	4.1×10^{12}	8.5×10^5
10^{-8}	4.5×10^{11}	5×10^5
10^{-9}	8.2×10^{10}	2.6×10^5

Tabla 1. UFC correspondientes a las diluciones realizadas tanto en el grupo control y grupo experimental.

CONCLUSIONES

Se sintetizaron las nanopartículas de sol gel y se comprobó la formación de dichas nanopartículas por espectrometría de fluorescencia, dichas nanopartículas se probaron como bactericidas ante la *E. coli* encontrándose que disminuyen la formación de UFC de dicha bacteria. Se sugiere estudiar la forma de agregar estas nanopartículas para ser usadas contra enfermedades nosocomiales en hospitales para ayudar al control sanitario de dichos lugares.

BIBLIOGRAFÍA

1. H.H. Lara, N. V. Ayala, L. T. Ixtapan, C. p. Rodriguez, Bactericidal effect of silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria, World J Microbiol Biotechnol, 2009.
2. N. V. Ayala, "Nanopartículas de plata como microbicidas: actividad y mecanismos de acción contra la infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) y diferentes bacterias resistentes a antibióticos", Tesis de doctorado en ciencias. UANL, México, 2010, pp 97.
3. N. V. Ayala, H. V. Lara, L.T. Ixtapan, C. R. Padilla, Silver Nanoparticles Toxicity and Bactericidal Effect Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Nanoscale Does Matter, Nanobiotechnol, 2009.
4. Norma Oficial Mexicana NOM-045-SSA2-2005, Para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de las infecciones nosocomiales.
5. OMS. Nota informativa: *Escherichia coli*, Recuperado en noviembre de 2017. http://www.who.int/topics/escherichia_coli_infections/es/

MORFOMETRÍA TRADICIONAL EN ERIZOS DE MAR, OBTENIDOS DE LA CAPTURA COMERCIAL DE PUERTO ÁNGEL, OAXACA, MÉXICO

Lizbeth Parra Mendoza¹, Ariadna Nicole Gómez Ruiz¹, José Eduardo Pulido Galindo¹, Isaías Hazarmabeth Salgado-Ugarte¹ y Verónica Mitsui Saito Quezada²

¹FES Zaragoza, UNAM, ²Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. novoa037@hotmail.com

RESUMEN

Los trabajos que aportan información sobre las relaciones morfométricas de los erizos de mar son relativamente escasos. En este trabajo se presentan los resultados obtenidos de un estudio morfométrico para erizos de mar capturados en Puerto Ángel, Oaxaca. Para este estudio se fotografiaron y midieron 78 caparazones de erizo; se realizaron dos medidas del diámetro basal del disco, el diámetro de la boca y la altura del caparazón. Para estimar el coeficiente de alometría (b), se realizó una regresión entre las diferentes combinaciones de las variables: diámetro-alto-boca. Se identificaron dos especies en la muestra: *Tripneustes depressus* y *Toxopneustes roseus*. Las proporciones obtenidas para el diámetro y boca son las mismas para ambas especies, sin embargo, la diferencia morfométrica entre estos recae en la relación diámetro-altura pues mientras *T. depressus* presenta un crecimiento de tipo hipoalométrico con una $b = 0.79$, *T. roseus* presenta un crecimiento de tipo hiperalométrico ($b = 1.50$), ambas con valores significativos ($P < 0.001$).

INTRODUCCIÓN

Los erizos de mar (Clase Echinoidea) se distribuyen desde las regiones intermareales hasta zonas profundas de los océanos (Brandt & Guarderas, 2002). Los erizos de mar actuales se caracterizan por un caparazón más o menos globular o con forma de disco, compuesto por 20 filas de placas que van desde el lado oral hasta el lado aboral. Estas veinte filas están formadas por 5 pares de placas ambulacrales, perforadas para permitir la salida de los pies ambulacrales y 5 pares de placas interambulacrales, que no están perforadas. El caparazón está protegido por espinas móviles, más o menos numerosas y de tamaños muy variados en función de la especie (González-Irusta, 2009).

Tradicionalmente, con base en la morfología de la testa, se consideraban dos Subclases: Regularia e Irregularia. Actualmente, teniendo en cuenta las relaciones evolutivas en la Clase, la clasificación más reconocida distingue las Subclases Cidarioidea y Euechinoidea (Borrero Pérez *et al.* 2002). Los erizos regulares, por su parte tienen una simetría radial con el peristoma situado en el lado inferior, en contacto con el sustrato y el periprocto situado en el sistema apical (González-Irusta 2009). Dentro de los erizos regulares que se encuentran en Puerto Ángel, Oaxaca, se encuentra la familia Toxopneustidae (*Tripneustes depressus*, *Toxopneustes roseus*) (Benítez-Villalobos *et al.* 2008).

El erizo café *T. depressus* es una especie perteneciente al Orden Echinoida, Claus, 1876; Familia Toxopneustidae, Roschel, 1872; Género *Tripneustes*, Agassiz, 1841 (Benítez-Villalobos *et al.* 2008). *T. depressus* presenta una testa fuertemente globosa; cuerpo café oscuro a morado, con espinas cortas de color café pálido; el diámetro de la testa puede alcanzar los 150 mm (Bertsch y Aguilar-Rosas 2016, Danemann y Ezcurra 2008).

El erizo rosa *T. roseus* es una especie perteneciente al orden Echinoida Claus, 1876, familia Toxopneustidae Roschel, 1872, Género *Toxopneustes* A. Agassiz (Benítez-Villalobos *et al.* 2008). Presenta un cuerpo robusto y de espinas cortas, presenta coloración rosácea a violeta, sus pedicelarios son globulados y tienen forma de flor compuesta por tres valvas que forman un triángulo (Ituarte *et al.* 2016).

Los estudios morfométricos sobre estos erizos son escasos. La morfometría es el estudio cuantitativo de la variación de las formas biológicas. Dada una escala espacial, un organismo vivo no puede tener una forma arbitraria, para mantener un diseño funcionalmente equilibrado, las proporciones entre las distintas partes del cuerpo cambian con el tamaño. Estas variaciones están relacionadas con la funcionalidad y forma de vida de cada organismo (Toro Ibacache *et al.* 2010).

Este estudio tiene como objetivos caracterizar morfométricamente a los erizos obtenidos en Puerto Ángel, así como comparar las diferencias morfométricas entre ambas especies empleando análisis estadísticos y determinando el coeficiente alométrico para cada uno. Con ello buscamos aportar nuevas formas descriptivas más precisas de estos organismos.

MATERIAL Y MÉTODO

Se fotografiaron y midieron 78 esqueletos de erizo de mar. Las fotografías obtenidas fueron procesadas en el programa CorelDraw para la obtención de medidas de manera digital. Se obtuvieron dos medidas del diámetro basal del disco, el diámetro de la boca y la altura del esqueleto (Figura1). Los análisis estadísticos de correlación y regresión, así como los gráficos fueron hechos con el programa Stata obteniéndose los valores del índice alométrico a partir de los datos en escala logarítmica de cada especie. Para probar el efecto de alometría, se realizó una regresión entre las diferentes combinaciones de las variables: Ambos diámetros del disco basal, Diámetro- altura y Diámetro del disco-Diámetro de la boca.

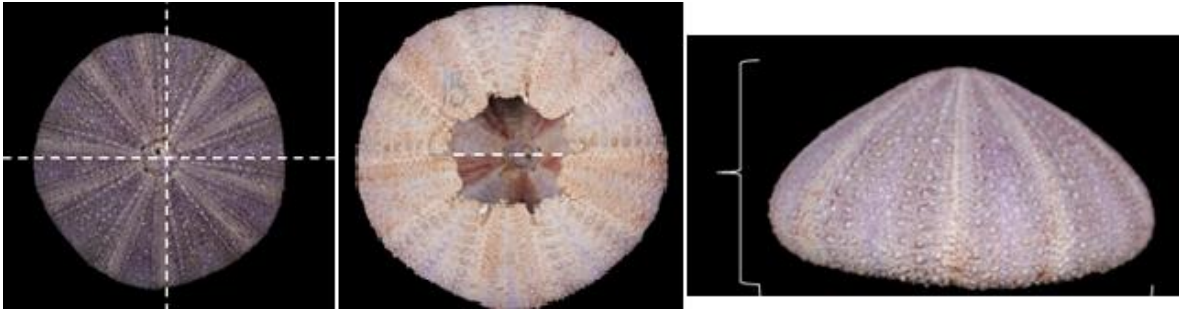


Figura1. Medidas tomadas digitalmente. Dos diámetros del disco, diámetro de la boca, altura.

RESULTADOS

La gráfica para la relación entre las dos medidas del diámetro del disco basal muestra una relación directa y significativa (Figura 2A). De igual forma la gráfica realizada para la relación entre el diámetro basal y el diámetro de la boca vuelve a mostrar una estrecha relación entre ambas medidas (Figura 2B). El análisis de correlación arrojó un valor para el coeficiente alométrico igual a 1.00 para el primer conjunto de datos y 0.99 para el segundo. Esto indica que el crecimiento del diámetro de los esqueletos de la muestra crece de manera isométrica, por lo que, aunque el organismo siga creciendo, la circunferencia del disco basal se mantendrá y no se deformará en ningún momento. Lo mismo resultara para el diámetro basal y la boca, siempre crecerán isométricamente en la misma proporción.

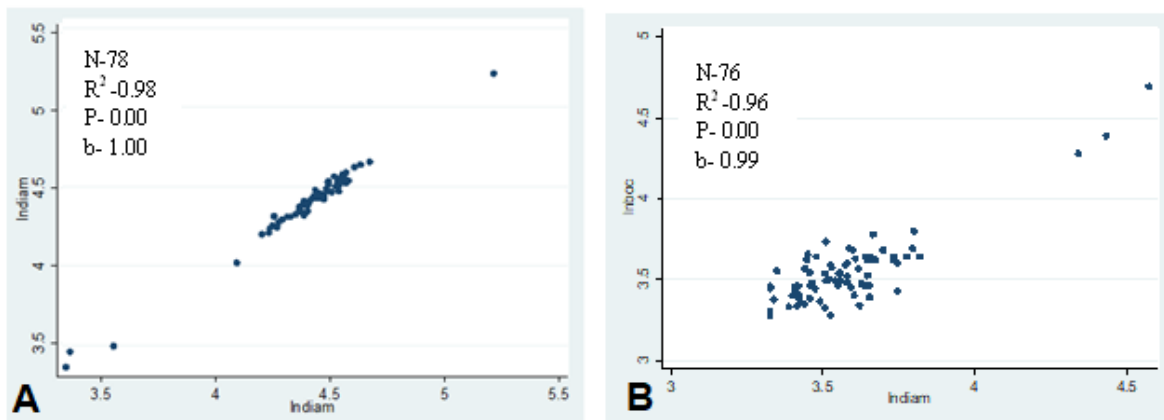


Figura 2. (A): Análisis de regresión entre variables morfométricas Diámetros basales. (B) Diámetro basal- Diámetro de la boca.

Al graficar las medidas del diámetro y la altura de los esqueletos se formaron dos grupos de datos claramente marcados en la Figura 3.

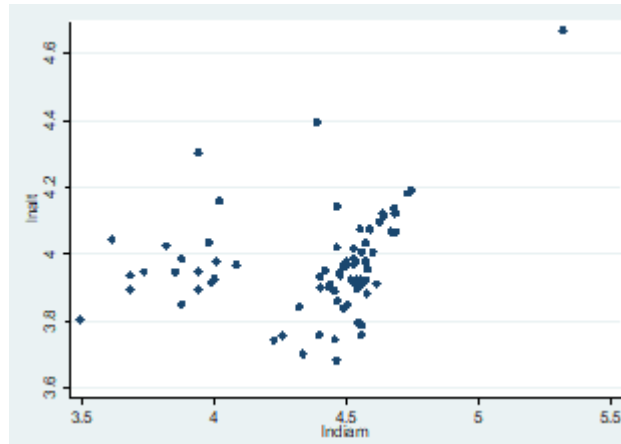


Figura 3. Relación del diámetro basal y la altura de los caparazones. Se muestra la separación de los datos en dos grupos distintos.

Esta separación de los datos permitió la identificación de dos formas dentro de la muestra. Se compararon los datos mostrados en la gráfica y las fotos de los caparazones llegando así a separar a los esqueletos en dos grupos para su análisis por separado: *Tripneustes depressus* y *Toxopneustes roseus*.

La gráfica para los valores del diámetro basal y la altura de los esqueletos de *Tripneustes depressus* y *Toxopneustes roseus* (Figura 3) no muestra ninguna relación entre ellas, a diferencia de las relaciones anteriores (Figura 2). El crecimiento del diámetro en relación con la altura es diferente en ambas especies. Al obtener la Figura 4A de estas relaciones para *T. depressus* se obtiene una relación directa entre ambas variables, con un coeficiente alométrico de 0.79, lo que significa que estas variables en este erizo presentan un crecimiento de tipo hipoalométrico, es decir, crece mayormente en diámetro que en altura provocando su forma achatada (Figura 4B)

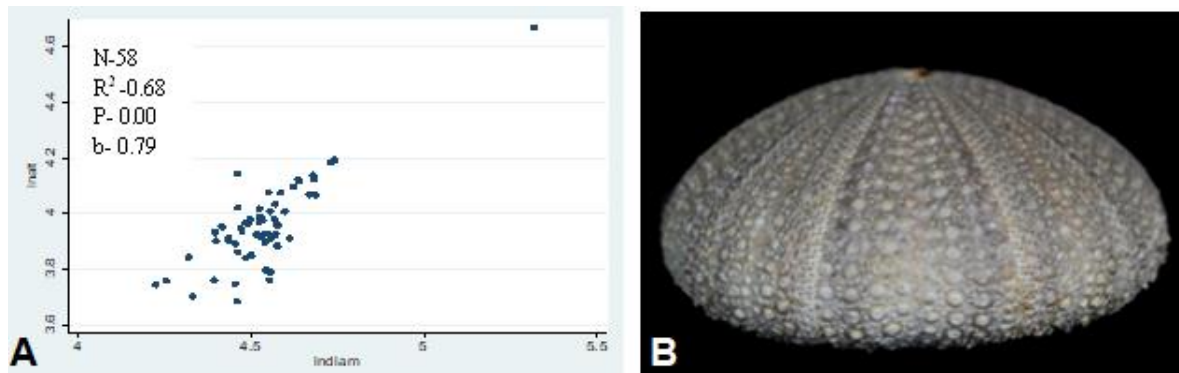


Figura 4. (A): Análisis de regresión de las variables morfométricas Diámetro-Altura para *T. depressus*. (B): caparazón de *T. depressus*

En la Figura 5A de estas relaciones para *T. roseus* se obtiene una relación directa entre ambas variables, obteniéndose con el análisis de regresión un coeficiente alométrico de 1.5. Por lo tanto, *T. roseus* crece mayormente en altura que, en diámetro, manifestando entonces un crecimiento de tipo hiperalométrico. Estos resultados morfométricos hacen evidente que este erizo tiene una forma más o menos cónica (Figura 5B).

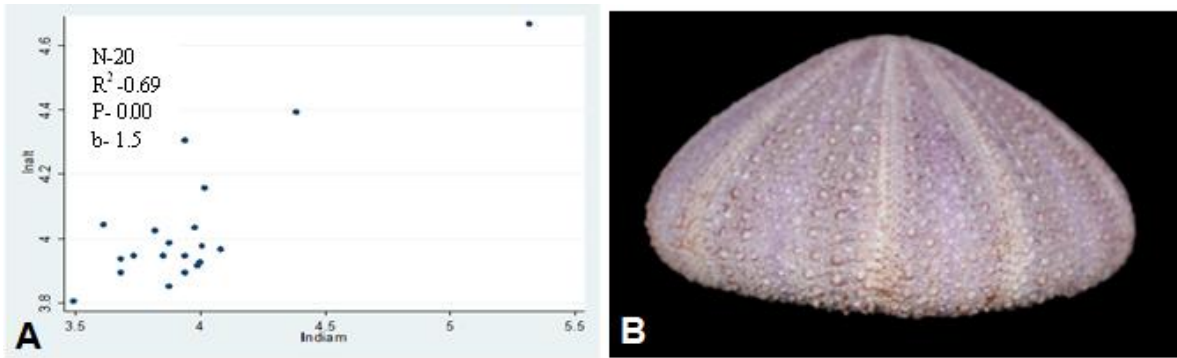


Figura 5. (A): Análisis de regresión de las variables morfométricas Diámetro-Altura para *T. roseus*. (B): Caparazón de *T. Roseus*

CONCLUSIÓN

Dado que la morfometría resulta ser una herramienta importante para la identificación de los caracteres que comparten ciertos organismos pertenecientes a especies diferentes e incluso identificar aquellos caracteres que no comparten organismos pertenecientes a una misma especie, por medio de este análisis se observaron dos especies *Tripneustes depressus* y *Toxopneustes roseus*.

Las proporciones obtenidas para el diámetro y boca son las mismas para ambas especies, sin embargo, la diferencia morfométrica entre estas recae en la relación ancho-altura pues mientras *T. depressus* presenta un crecimiento de tipo hipoalométrico con una $b = 0.79$, *T. roseus* presenta un crecimiento de tipo hiperalométrico con una $b = 1.50$, ambas con valores significativos ($P < 0.001$).

BIBLIOGRAFÍA

1. Benítez-Villalobos, F., E. Castillo-Lorenzano & G. González-Espinosa (2008). Listado taxonómico de los equinodermos (Echinodermata: Asterozoa y Echinozoa) de la costa de Oaxaca en el Pacífico sur mexicano. *Revista de Biología Tropical*, 56 (3): 75-81.
2. Bertsch, H. & L.E. Aguilar-Rosas (2016). Marine Invertebrates of Northwest Mexico. Universidad Autónoma de Baja California. Ciencias Marinas. 423p.
3. Borrero Pérez, G. H., O.D. Solano & M. Benavides Serrato (2002). Lista revisada de los erizos (Echinodermata: Echinozoa) del mar Caribe colombiano. *Biota Colombiana*, 3(1).
4. Brandt, M. & P. Guarderas (2002). Erizos de mar. *Reserva Marina de Galápagos. Línea Base de la Biodiversidad. Fundación Charles Darwin/Servicio Parque Nacional Galápagos, Santa Cruz, Galápagos, Ecuador*, 396-418.
5. González-Irusta, J. M. (2009). *Contribución al conocimiento del erizo de mar Paracentrotus lividus (Lamarck, 1816) en el Mar Cantábrico: ciclo gonadal y dinámica de poblaciones* (Doctoral dissertation, Tesis Doc. Universidad de Cantabria).
6. Molina C.A (2016). Densidad y comportamiento de cobertura del erizo *Toxopneustes roseus* asociado a cambios medioambientales y depredadores en Islas Marietas, Nayarit. (posgrado en oceanografía costera) Universidad Autónoma de Baja California, Baja California sur.
7. Toro Ibacache, M.V., G. Manriquez Soto & I. Suazo Galdames (2010). Morfometría Geométrica y el Estudio de las Formas Biológicas: De la Morfología Descriptiva a la Morfología Cuantitativa. *International Journal of Morphology*, 28(4): 977-990.

TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE EXTRACTOS DE *C. BUNGEI* EN DIVERSOS SOLVENTES MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA

Guadalupe López Olivares¹, Elizabeth Vargas Anaya¹, Josué Efraín Cruz Santos², Alejandra Castro Lino¹, Ismael Soto López¹ y Ana Lilia Padilla Velasco¹

¹Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Inorgánica, ²Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Biológicas. Estudiante de Biología matrícula 201240107.

RESUMEN

La determinación de los compuestos químicos de una planta es una técnica que se ha realizado los últimos años para poder lograr aislar compuestos químicos de interés en la medicina y farmacéutica, muchas plantas presentan pocos componentes químicos, mientras que otras están formadas por gran cantidad de compuestos, en el presente trabajo se determinaron algunos componentes de la planta medicinal *C. bungei* por medio de cromatografía de capa fina en placas de silicagel 60 F₂₅₄ de 4cm y 8 cm, se realizan 4 extractos diferentes con muestra seca pulverizada. Todas las corridas cromatográficas se realizan a temperatura ambiente con cámaras cromatográficas saturadas en 2 sistemas, al finalizar se realizó un revelado con 4 reactivos. Y se analizan a simple vista, a luz UV de onda corta (254 nm) y de onda larga (365 nm); se obtiene un total máximo de 14 fragmentos y un mínimo de 3 fragmentos.

INTRODUCCIÓN

La determinación de los compuestos químicos de una planta se ha realizado a lo largo de los años para poder determinar compuestos químicos de interés en la medicina y farmacéutica, gran cantidad de plantas presentan pocos componentes químicos, mientras que otras están formadas por gran cantidad de compuestos; dentro de estos compuestos existen metabolitos secundarios los cuales tienen funciones como atrayentes o repelentes de animales, generan los pigmentos que proporcionan color a las flores y frutos e incluso intervienen en mecanismos de defensa frente a patógenos. Por su parte la cromatografía es un método de gran importancia dada su especificidad y la posibilidad de usarlo para análisis cuantitativos y cualitativos; es una de las técnicas más integrales para el análisis de plantas medicinales; las más utilizadas son cromatografía en papel, cromatografía de capa fina (CCF/TLC), cromatografía líquida y de gases. La cromatografía de capa fina tiene una fase estacionaria fija, mientras la móvil migra a través de ella, una vez desarrolladas las cromatografías la fase móvil se evapora al aire libre y las fracciones se pueden visualizar a simple vista, bajo la luz ultravioleta o aplicando reveladores. Una de las principales ventajas de la TLC es que en ella se pueden utilizar métodos más drásticos de revelado, como rociarlas con ácido y posteriormente calentarlas, que no pueden ser utilizadas en celulosa de papel.

PARTE EXPERIMENTAL

Se tomaron muestras frescas de hojas de *C. bungei*, las cuales son lavadas, pesadas y secadas a 40°C de 24 a 48 horas, posteriormente se procede a realizar un pulverizado y tamizado en malla número 20. Se realizaron diferentes extractos para poder determinar en diferentes solventes la obtención de las fracciones del compuesto de *C. bungei*, como se muestra en la tabla 1.

Extractos	1gr Muestra seca
M	5ml Metanol a baño maría
E	5ml Etanol a baño maría
2	5ml de metanol + 1 ml de NH ₄ OH A 10% a baño maría
3	Diclorometano (reflujo x 15 min)/ evaporar a sequedad--> disuelve 0.5 tolueno

Tabla 1. Clasificación del extracto y componentes; todos los extractos se generaron a partir de 1 gr de muestra seca pulverizada

Para las corridas cromatográficas se utilizan placas de Silicagel 60 F₂₅₄ placas cubiertas para TLC de la marca Merck, se realizaron a temperatura ambiente con cámaras cromatográficas saturadas en dos sistemas:

- Sistema A: etil-acetato/metanol/agua (100:13.5:10)
- Sistema B : tolueno/etil –acetato (93:7)
-



Figura1. Sistema A y sistema B para las cámaras cromatográficas

Para ambos sistemas se desarrollaron corridas de 4 cm y 8 cm. Al finalizar, las cromatografías son reveladas con:

- Reactivo Azul de Berlín (BB); específico para detectar arbutina
- Rectivo de Dragendorff; específico para detectar alcaloides
- Reactivo Ácido clorhídrico – Ácido acético glacial (HCl/AA); específico para detectar valepotriatos
- Reactivo Vainillina – Ácido sulfúrico (VS)

Las cromatografías fueron analizadas a simple vista y con luz ultravioleta de onda corta (254 nm) y de onda larga (365 nm); para lo cual, se utilizó una lámpara UVP Mineralight modelo UVGL-25.

Una vez detectadas las manchas de los diferentes compuestos, se procede a realizar las mediciones pertinentes y los cálculos de los factores de retención resultados

RESULTADOS

Para el caso del sistema A se obtuvieron los siguientes resultados:

Sistema A	Bandas observadas
Extracto M	13
Extracto E	13
Extracto 2	9
Extracto 3	14

Tabla 2. Bandas observadas en cada uno de los extractos realizados con el sistema A

Resultados para el extracto M en el sistema A						
	<i>Sin revelador adicional</i>			<i>HCl/AA</i>		<i>VS</i>
	<i>R_f</i>	<i>Visible</i>	<i>254 nm</i>	<i>Visible</i>	<i>365 nm</i>	<i>Visible</i>
MA-1	0.097 ±0.009	-	-	-	Ligeramente turquesa	Morada / Marrón
MA-2	0.187 ±0.025	-	-	Marrón	Ligeramente turquesa	Violeta
MA-3	0.253 ±0.019	-	-	Marrón	Turquesa	-
MA-4*	0.331 ±0.025	Marrón	+	Marrón	Turquesa	Verde olivo oscuro
MA-5	0.425 ±0.022	-	-	Azul	Ligeramente amarilla	Lila
MA-6*	0.492 ±0.025	-	-	Marrón	Blanca	Violeta
MA-7*	0.564 ±0.024	-	-	-	Roja	Ligeramente morada
MA-8*	0.684 ±0.016	Amarilla	-	Ligeramente marrón	Ligeramente amarilla	Morada
MA-9**	0.787 ±0.014	Amarilla	-	Marrón	Ligeramente amarilla	Violeta
MA-10**	0.818 ±0.021	Amarilla	-	Ligeramente azul	Ligeramente amarilla	Violeta
MA-11***	0.885 ±0.022	Verde	+	Verde olivo	Negro	Verde
MA-12***	0.885 ±0.022	Verde	+	Verde olivo	Rojo	Verde
MA-13	0.924 ±0.023	-	-	Amarillo	Ligeramente amarilla	Violeta

Tabla 3. Visualizaciones de las bandas a luz visible sin revelador y a 254 nm, HCl/AA a luz visible y a 365 nm; VS a luz visible en sistema A. (-) La banda no es visible en esta modalidad. (+) La banda se observa como una mancha oscura. Positividad para el fenómeno conocido como quenching, esperado en TLCs desarrolladas en placas precubiertas con F₂₅₄.

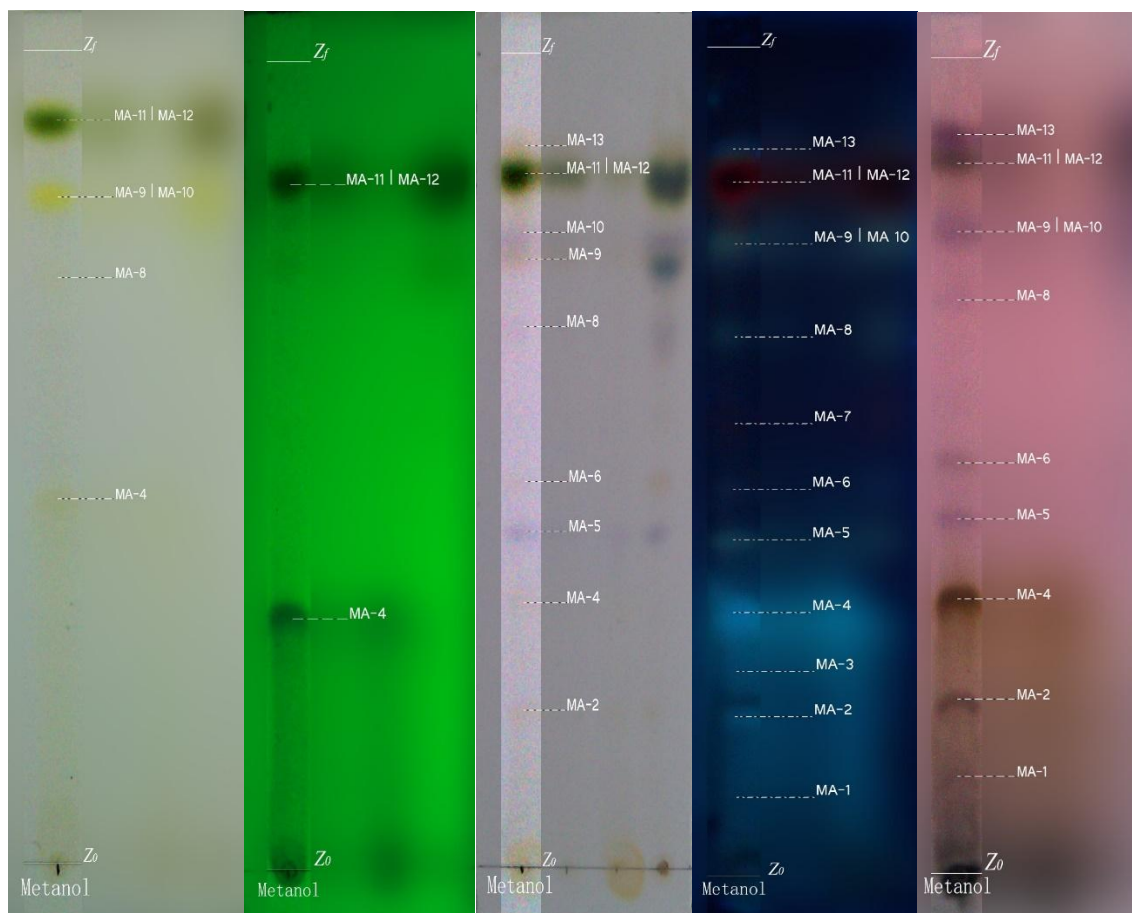


Figura 2. Visualizaciones de las bandas a luz visible sin revelador y a 254 nm, HCL/AA a luz visible y a 365 nm; VS a luz visible en sistema A.

Para el caso del sistema B se logró observar lo siguiente:

Sistema B	Bandas observadas
Extracto M	7
Extracto E	6
Extracto 2	3
Extracto 3	12

Tabla 4. Bandas observadas en cada uno de los extractos realizados con el sistema B

Resultados para el extracto M en el sistema B						
	<i>Sin revelador adicional</i>	<i>HCl/AA</i>		<i>VS</i>		
	<i>R_f</i>	<i>Visible</i>	<i>254 nm</i>	<i>Visible</i>	<i>365 nm</i>	<i>Visible</i>
MB-0	0.040 ±0.012	Verde	+	Verde	Rojo / Caoba	Verde olivo
MB-0.1	0.040 ±0.011	-	-	Ligeramente verde	Rojo	Ligeramente verde
MB-1	0.125 ±0.023	-	-	Marrón	Blanco	Violeta
MB-2	0.244 ±0.018	-	-	Azul	Amarilla	Azul
MB-3	0.309 ±0.033	Verde grisáceo	+	Ligeramente verde	Roja	Ligeramente olivo
MB-4	0.337 ±0.010	-	-	-	Ligeramente amarilla	-
MB-5	0.476 ±0.037	Verde grisáceo	+	Verde	Roja	Verde
MB-5.1*	0.468 ±0.007	-	-	Ligeramente verde	Roja	-
MB-6**	0.758 ±0.031	-	-	Marrón	Azul	Violeta
MB-7**	0.918 ±0.051	Amarilla	-	Marrón	Azul	Morado

Tabla 5. Visualizaciones de las bandas a luz visible sin revelador y a 254 nm, HCL/AA a luz visible y a 365 nm; VS a luz visible en sistema B. (-) La banda no es visible en esta modalidad. (+) La banda se observa como una mancha oscura. Positividad para el fenómeno conocido como quenching, esperado en TLCs desarrolladas en placas recubiertas con F₂₅₄.

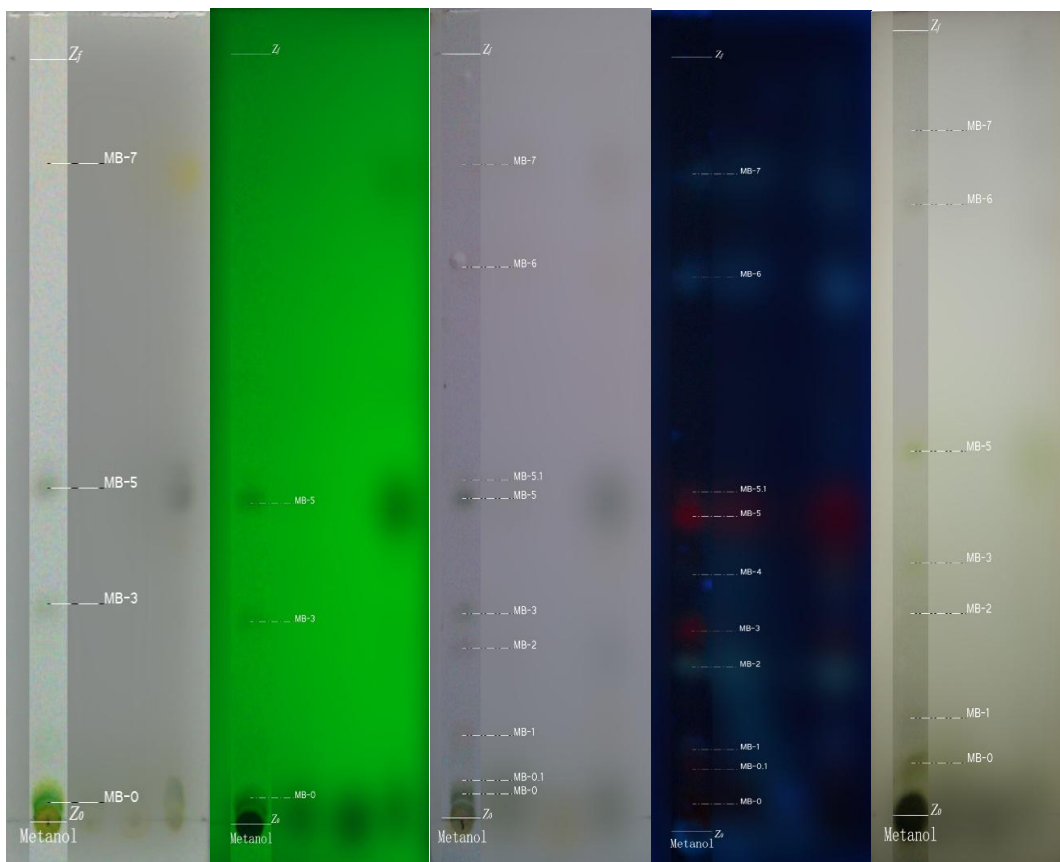


Figura 2. Visualizaciones de las bandas a luz visible sin revelador y a 254 nm, HCL/AA a luz visible y a 365 nm; VS a luz visible en sistema B. (-) La banda no es visible en esta modalidad. (+) La banda se observa como una mancha oscura. Positividad para el fenómeno conocido como quenching, esperado en TLCs desarrolladas en placas recubiertas con F_{254}

CONCLUSIONES

La metodología propuesta en el presente trabajo ha permitido la separación de una cantidad considerable de compuestos, a pesar de ello existen compuestos que no logran separarse o quedan suspendidos en ambos sistemas, el cual es mayormente evidenciado en el sistema B, aunado a eso se observa una mejor visualización y separación de los compuestos en el sistema A, dentro de los cuales se encuentran posibles iridoides.

BIBLIOGRAFÍA

1. Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, (CPFEUM). (2014). *farmacopea de los estados unidos mexicanos*. México.
2. Kuklinski, C. (2000). *Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. España: editorial Omega.
3. Waksmundzka-Hajnos, M.; Sherma, J. y Kowalska, T. (2008). *Thin Layer Chromatography in phytochemistry*. Estados Unidos: CRC Press
4. Evans, W.C. (2002). *Treas and Evans pharmacognosy* (15ª ed.). Reino Unido: W.B. Saunders.
5. Avalos García A. y Perez-Urria E. (2009). *Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología): Serie Fisiología Veetal*, 2 (3), 119-145. Urria2009

EL CONSUMO DE LAS ANTOCIANINAS PRESENTES EN LA TORTILLA DE MAÍZ AZUL (RAZA MIXTECO) COMO PROMOTORAS DE LA ESTABILIDAD GENÓMICA.

Ramos-Ibarra María Luisa¹; Alarcón Aparicio Edna²; Sánchez Arreguín Carla Georgina¹; Torres-Bugarín Olivia³; Chávez-Servia José Luis⁴; Zavala-Aguirre José Luis³; Gerónimo Guzmán Rosa Isela²; Valderrama Cháirez María Leonor⁵; Mendoza Roaf Patricia Lorelei⁶.

¹Laboratorio de Toxicología Genética, Depto. Salud Pública, Div. Ciencias Veterinarias, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara (UDG); ²Universidad Veracruzana; ³Universidad Autónoma de Guadalajara; ⁴Instituto Politécnico de Oaxaca; ⁵Depto. Salud Pública, Div. Ciencias Veterinarias, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, UDG; ⁶Centro Universitario de Ciencias de la Salud, UDG.

RESUMEN

Las antocianinas presentes en la tortilla de maíz azul (raza mixteco) superan en cantidad y calidad a otras contenidas en otros granos de maíz oscuros. Es importante corroborar el papel que juegan en la inestabilidad genómica ocasionada por agentes micronucleogénicos como lo son algunos fármacos. Por lo que en este estudio se evaluó el consumo de las antocianinas presentes en la tortilla de maíz azul (raza mixteco) como promotoras de la estabilidad genómica.

Metodológicamente, se formaron 6 grupos de ratones. Grupo 1: sol/salina; Grupo 2: ciclofosfamida (CF) 5 mg/kg peso corporal; Grupo 3: CF 5 mg/kg+20 µl de extracto de tortilla de maíz azul de la raza mixteco (ETMARM); Grupo 4: alimento convencional; Grupo 5: 0,06 g de tortilla de maíz azul de la raza mixteco (TMARM); Grupo 6: 0,6 g de TMARM. Los grupos 1-3 se les administró oralmente las soluciones vía sonda orogastrica y la CF y en los grupos 4 a 6 las dosis fueron *ad libitum*. Se tomaron muestras de sangre periférica a los ratones, se realizaron frotis, se procesaron y se tiñeron con naranja de acridina. Se realizó el conteo celular (frecuencias de eritrocitos micronucleados [MNE]; Eritrocitos policromáticos micronucleados [EPCMN] y eritrocitos policromáticos [EPC] con microscopia de fluorescencia.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes: en los grupos 1 y 4 (controles/negativos) presentaron similitudes en la frecuencia de EMN, EPC y EPCMN a lo largo del muestreo. El grupo 2 presentó menor frecuencia de EMN debido a que hubo citotoxicidad y por ende disminución de EPCMN; mientras que los grupos 3, 5 y 6 (experimentales) mostraron disminución significativa en la frecuencia de EMN con respecto a los controles ($P < 0,05$). Por lo que se puede concluir que las antocianinas contenidas en ETMARM y TMARM, tienen efecto protector sobre la inestabilidad genómica inducida por el daño micronucleogénico de la CF, ya que disminuyen la frecuencia de EMN en los ratones expuestos.

INTRODUCCIÓN

Generalidades del maíz

El origen exacto del maíz actual (*Zea mays*) es algo que no ha llegado a esclarecerse plenamente. Sin embargo, gracias a la datación promedio del Carbono 14 realizada sobre espiga de maíz encontrado en yacimientos arqueológicos en el Valle de Tehuacán se sabe que este cereal era consumido en México desde hace 7000 años. La evolución natural así como las capacidades agrícolas de los indígenas transformaron progresivamente esas mazorcas salvajes en algo más parecido a lo que conocemos actualmente. Particularmente, las civilizaciones Maya y Azteca jugaron un papel fundamental en las creencias religiosas, en sus festividades y en su nutrición. Y en tiempos precolombinos ya se cultivaba el maíz desde Chile hasta Canadá. Debido a su fácil productividad y adaptación al medio, el cultivo de maíz se extendió rápidamente y se incluyó en la dieta popular de los habitantes de esa época y durante el siglo XVIII, este se difundió de forma gradual por el resto de Europa, primero por los lugares de clima más cálido del Mediterráneo y posteriormente por la Europa Septentrional. Actualmente, se cultiva en la mayoría de los países del mundo siendo la tercera cosecha más importante después del trigo y el arroz. Hoy en día, el maíz se utiliza como fuente fundamental en la nutrición tanto de seres humanos como animales. Es además una materia prima indispensable y altamente demandable en la fabricación de productos alimenticios, farmacéuticos y de uso industrial (Agama Acevedo 2011; Arellano Vázquez 2013).

Particularmente, el maíz tiene una amplia base genética como resultado de los múltiples procesos de selección, adaptación y manejo. En México, se han clasificado al menos 59 razas con base en caracteres morfológicos y polimórficos de isoenzimas. Dentro de las razas se tienen variantes en función del tipo de coloración del grano, el cual se determina por la presencia de carotenoides, antocianinas y flobafenos; uno de los componentes de la diversidad fenotípica es precisamente el color del grano (Alarcón Aparicio Edna, 2013).

Razas de maíz azul

Se describen las siguientes: chalqueño, bolita, tabloncillo, estos en la meseta central y en la región de Oaxaca zapalote, olotillo, tepecintle, conejo, pepitilla, arrocillo, vandeño, comiteco, cónico, mixeño y mixteco (Sánchez cols., 2000 Chávez Servia, 2012; Vera-Gúzman, 2012). Particularmente, en este estudio se hará énfasis en el maíz de raza mixteco.

Maíz mixteco

La raza mixteca la describió Benz en 1986 y posteriormente fue colectada por Aragón y cols., en el 2006 en la región mixteca, y proponen que se declare a la región de Chalcatongo de Hidalgo. Oaxaca, pues es el clima templado sub húmedo propicio para su desarrollo (Chavez-Servia, 20012). El maíz se cultiva en la Mixteca desde antes de la colonia y prevalece en el sistema "milpa", con sus diversos coloridos entre ellos el grano blanco, amarillo, pinto, rojo y azul (Chávez y Diego, 2011). Con respecto a la calidad nutritiva del grano de los maíces nativos de esta región, desde el 2011 se han realizado estudios para identificar, evaluar y caracterizar completamente este alimento con la finalidad de promover la diversidad de maíces que mejoren la dieta y fortalezcan la salud de las comunidades indígenas ya que al parecer cuentan con casi todos los nutrimentos necesarios para la alimentación humana y otras especies (Alarcon Aparicio Edna 2013).

Maíz azul

En los últimos años, la demanda en el consumo de maíces pigmentados al igual que otros alimentos rojos como berenjena, frambuesa, cereza, etc., han aumentado considerablemente, específicamente del maíz azul, cuyos colorantes naturales contienen propiedades antioxidantes y efectos benéficos a la salud. Sin embargo, su potencial de producción no ha sido del todo estudiado por lo que abre una amplia línea de investigación al respecto; ya sea como alimento o fitofármaco tanto de uso humano como animal (Alarcón Aparicio Edna, 2013).

Propiedades nutrimentales y fisicoquímicas del maíz azul

En las comunidades rurales, el maíz es la base de la alimentación, y mediante procesos básicos de transformación, como la nixtamalización, convierten al grano en diversos productos y platillos gastronómicos. Sin embargo, la calidad nutritiva del grano de los maíces nativos, particularmente los cultivados en la Mixteca, no ha sido completamente identificada, evaluada y caracterizada, de allí la importancia de promover la diversidad de maíces que mejoren la dieta que fortalezcan la salud de los humanos como la de los animales. En México, el maíz es la principal fuente de energía y proteínas de la población. En particular, los maíces nativos aportan a la dieta compuestos antioxidantes, carotenoides, aminoácidos (Vidal,cols., 2008) y diversos elementos nutricionales que tienen un efecto positivo en la prevención de enfermedades como hipertensión arterial, altos niveles de triglicéridos, colesterol y efecto anti carcinogénico colorrectal Aunque si bien, la gran mayoría de estos efectos benéficos a la salud se le atribuyen a las antocianinas contenidas en dichos alimentos (Alarcón Aparicio Edna, 2013).

Las antocianinas

Son pigmentos que pertenecen al grupo de los bioflavonoides y estos a una amplia familia de fitoquímicos que se conocen como flavonoides, de los que se han identificado unos 4,000 diferentes aproximadamente. Las antocianinas se mostraron como los más potentes antioxidantes de entre 150 flavonoides diferentes. Estos últimos son colorantes naturales (pigmentos hidrosolubles) de algunas plantas que se pueden encontrar en hojas, flores, frutos y semillas. Comprenden principalmente los colores rojos, violetas y azules y las protegen de la luz ultravioleta conservando así sus propiedades antioxidantes.

En el grano de maíz azul, la capa de aleurona contiene los pigmentos de antocianina azul que le dan el color (Beltrán, cols., 2001). Tales antocianinas se derivan de la cianidina y pelargonidina. El grano azul con endospermo harinoso posee mayor valor alimenticio que el grano amarillo, pues el contenido de lisina en el maíz azul es de 2.3 mg contra 1.4 mg registrado en maíz híbrido amarillo; el contenido de proteína y minerales en el maíz azul también es más alto que el de otras variedades.

Además, el maíz azul contiene flavonoides, que actualmente se utilizan como fuente de antioxidantes. Por otra parte, las características más destacadas del maíz azul son el atractivo color del grano, su sabor diferente y sus propiedades antioxidantes (Alarcón Aparicio Edna, 2013) las cuales pueden proteger de lesiones al ADN durante la mitosis; después de una exposición a agentes clastógenos (aquellos que fracturan cromosomas) como es el caso de la ciclofosfamida (Zavala-Aguirre y cols., 2010).

La prueba de micronúcleos (MN) como biomarcador de genotoxicidad

Los micronúcleos (MN) son fragmentos de cromosomas o cromosomas completos que quedan rezagados en anafase, por lo tanto no son incluidos en el núcleo de las células hijas durante la división celular. Los MN pueden ser generados a través de diferentes procesos, es decir, rompimiento y/o pérdida del cromosoma y este daño puede ocurrir debido a excesiva exposición a agentes que dañan el cromosoma, defectos en la mitosis y/o defectos en la reparación del DNA. La prueba puede ser aplicada en cultivo o *in vivo* en cualquier tejido que se divida por ejemplo eritrocitos, linfocitos, y células epiteliales de mucosa bucal con el objetivo de detectar el daño al genoma. (Torres-Bugarín y cols., 2015). Mediante su estudio podemos determinar el efecto genotóxico que pueden sufrir los organismos expuestos a agentes tóxicos o bien, el efecto contrario por la acción de antioxidantes como el ácido fólico (Gómez-Meda y cols., 2004; Zúñiga-González y cols., 2007).

Con base a la información anterior, se puede concluir que el análisis de micronúcleos ofrece un método sencillo, económico y efectivo para investigar y evaluar la respuesta celular al efecto de mutágenos y/o agentes carcinógenos; así como también el efecto contrario por la acción del efecto antioxidante de diversas sustancias. La utilización de este biomarcador se vislumbra como una herramienta útil en el monitoreo de daño genotóxico y ha tomado un auge muy importante en los últimos años.

OBJETIVO

Evaluar el consumo de las antocianinas presentes en la tortilla de maíz azul (raza mixteco) como promotoras de la estabilidad genómica.

METODOLOGÍA

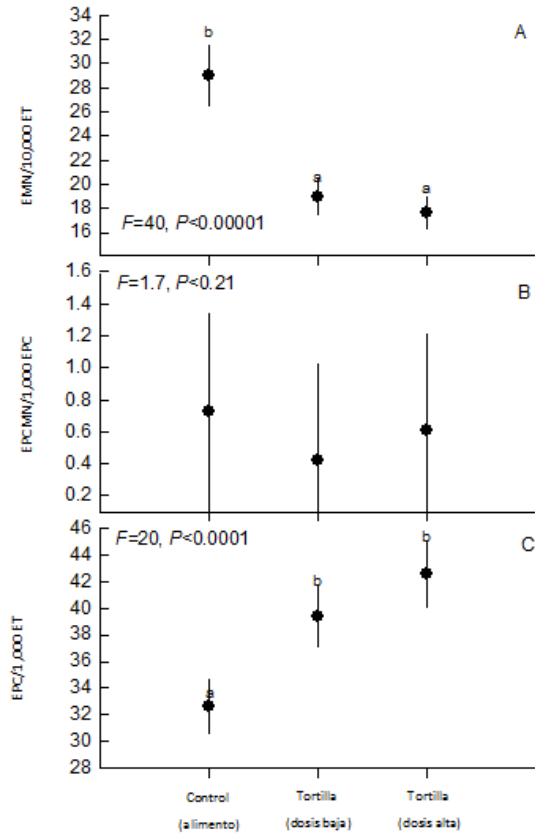
Se formaron 6 grupos de ratones. Grupo 1: sol/salina; Grupo 2: ciclofosfamida (CF) 5 mg/kg peso corporal; Grupo 3: CF 5 mg/kg+20 µl de extracto de tortilla de maíz azul de la raza mixteco (ETMARM); Grupo 4: alimento convencional; Grupo 5: 0,06 g de tortilla de maíz azul de la raza mixteco (TMARM); Grupo 6: 0,6 g de TMARM. Los grupos 1-3 se les administró oralmente las soluciones vía sonda orogastrica y la CF y en los grupos 4 a 6 las dosis fueron *ad libitum*. Se tomaron muestras de sangre periférica a los ratones, se realizaron frotis, se procesaron y se tiñeron con naranja de acridina (Hayashi y cols., 1990). Se realizó el conteo celular (frecuencias de eritrocitos micronucleados [MNE]; Eritrocitos policromáticos micronucleados [EPCMN] y eritrocitos policromáticos [EPC] con microscopia de fluorescencia y se aplicó estadística descriptiva y comparativa con valor de $P < 0.05$.

RESULTADOS

Los grupos 1 y 4 (controles/negativos) presentaron similitudes en la frecuencia de EMN, EPC y EPCMN a lo largo del muestreo. El grupo 2 presentó menor frecuencia de EMN debido a que hubo citotoxicidad y por ende disminución de EPCMN; mientras que los grupos 3, 5 y 6 (experimentales) mostraron disminución significativa en la frecuencia de EMN con respecto a los controles ($P < 0,05$). Gráficas 1-2.



Fig. 2. Valores promedio \pm desviación estándar de eritrocitos micronucleados (EMN)/10,000 eritrocitos totales (ET) en sangre periférica de ratón. Control (Grupo 1: sol. Fisiológica); CF (Grupo 2 ciclofosfamida); RMBC (extracto de tortilla de maíz azul de la raza mixteco [ETMARM]). Se aplicó prueba de *Kruskal Wallis*.



Los resultados se presentan como media \pm desviación estándar. Eritrocitos micronucleados (EMN); eritrocitos policromáticos micronucleados (EPCM); eritrocitos policromáticos (eritrocitos policromáticos); eritrocitos totales (ET). A (Grupo control [alimento convencional]); B (Tortilla de maíz azul [TMARM], dosis baja); C (Tortilla de maíz azul, dosis alta). Se realizó prueba de *Fischer*, para comparar entre grupos con un valor de $P < 0.05$.

CONCLUSIONES

Las antocianinas contenidas en ETMARM y TMARM, tienen efecto protector sobre la inestabilidad genómica inducida por el daño micronucleogénico de la CF, ya que disminuyen la frecuencia de EMN en los ratones expuestos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Agama-Acevedo Edith, Yolanda Salinas-Moreno, Glenda Pacheco-Vargas, Luis Arturo Bello-Pérez Características físicas y químicas de dos razas de maíz azul. *Morfología del almidón. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, vol. 2, núm. 3, mayo-junio, 2011, pp. 317-329. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, México
2. Arellano Vázquez José Luis¹, Israel Rojas Martínez y Germán Fernando Gutiérrez Hernández (2013). Híbridos y variedades sintéticas de maíz azul para el Altiplano Central de México: potencial agronómico y estabilidad del rendimiento. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Vol.4 Núm.7* 28 de septiembre - 11 de noviembre, 2013 p. 999-1011
3. Chávez S J L, P Diego F (2011) Familias campesinas y variación fenotípica de poblaciones nativas de maíz en la región de Tlaxiaco, Oaxaca. *Des. Amb. Cult.* 1:28-38.
4. Chávez -Servia J L, P Diego-Flores, J C Carrillo-Rodríguez (2011) Complejos Raciales de poblaciones de maíz evaluadas en San Martín Huamelulpam, Oaxaca. *Ra Ximhai* 7:107-115.
5. Gómez-Meda BC, Zúñiga-González GM, Zamora-Perez A, Ramos-Ibarra ML, Batista-González CM, Torres-Mendoza BM. (2004). Folate supplementation of cyclophosphamide-treated mothers diminishes micronucleated erythrocytes in peripheral blood of newborn rats. *Environ Mol Mutagen.* 44(2):174-8.
6. Hayashi M, Morita T, Kodama Y, Sofuni T, Ishidate M. (1990). The micronuclei assay with mouse peripheral blood reticulocytes using acridine orange-coated slides. *Mutat Res*, 245:245-249.
7. Torres-Bugarín O, Ramos-Ibarra ML, Flores García A, Ruíz Bernés S, Zavala MG, (2015). La prueba de micronúcleos: Biomarcador de contaminación genotóxica, mutagénica y/o teratogénica. En *Pacífico Mexicano, Contaminación e Impactos Ambientales: Diagnóstico y Tendencias*. 819-848. ISBN 978-607-7887-94-2.
8. Vera-Guzmán, Araceli M.; Chávez-Servia, J. Luis; Carrillo-Rodríguez, José C. (2012). Proteína, lisina y triptófano en poblaciones nativas de maíz mixteco. *Revista Fitotecnia Mexicana*, vol. 35, núm. 5, pp. 7-13 Sociedad Mexicana de Fitogenética, A. C. Chapingo, México.
9. Vidal M V A, G Vázquez C, B Coutino E, A Ortega C, J L Ramirez D, R, Valdivia B, M J Guerrero H, F J Caro V, O Cota A (2008). Calidad proteica en colectas de maíces criollos de la Sierra de Nayarit, México. *Rev. Fitotec. Mex. (Num. Esp. 3)*:15-21. *aca. Ra Ximhai* 7:107-115.
10. Zavala-Aguirre JL, Torres-Bugarin O, Buelna-Osben HR, Flores-Kehn LP, Ramos-Ibarra ML, Zúñiga-González G, Ogura T. (2010). Induction of micronuclei and nuclear abnormalities by cyclophosphamide and colchicine in *Xenotoca melanosoma* (Pisces, Goodeidae) from Lake La Alberca in Michoacan, Mexico. *J Environ Sci Health a Tox.* 45(1): 75-81.
11. Zúñiga-González G, Batista-González CM, Gómez-Meda BC, Ramos-Ibarra ML, Zamora-Perez AL, Muñoz-Magallanes T, Ramos-Valdés C, Gallegos-Arreola MP (2007). Micronuclei in diabetes: Folate supplementation diminishes micronuclei in diabetic patients but not in an animal model. *Mutation Res*, 634:126-134.

LA TOXICIDAD DE LAS MICOTOXINAS Y SUS EFECTOS EN LOS HUMANOS. CASO: FUNGICIDAS

María Sonia Hernández Duarte¹ América Rosana Gutiérrez Zúñiga² María Eugenia López Ponce³

¹ Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías (UdeG), ² Centro Universitario de la Ciénega (UdeG) ³ Instituto Tecnológico Superior de Calkiní en el Estado de Campeche.

RESUMEN

Las micotoxinas son compuestos altamente tóxicos que son el resultado de un metabolismo secundario de origen fúngico; dentro de estas especies fúngicas se encuentran los géneros *Arpergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps*, *Alternaria*, *Neotyphodium*, *Stashybotrys*, *Myrothecium*, *Phoma* y *Diploidia*. Actualmente se reconocen más de 300 micotoxinas producidas por más de 350 especies de hongos, causantes de distintas alteraciones en el organismo como lo es: hepatotoxicidad, nefrotoxicidad, actividad inmunosupresora, teratogenicidad, mutagenicidad, carcinogenicidad, estrogonicidad y acción diabetógena.

Las micotoxinas son un grupo de toxinas conformadas por aflatoxinas, ocratoxinas, tricotecenos y zearalenona, y se encuentran principalmente en productos agrícolas como cereales, nueces, judías, y aceite de semillas. Dentro de este grupo de toxinas, las aflatoxinas son las más importantes y las toxinas más estudiadas, ya que son bien conocidas por su carcinogenicidad y citotoxicidad, donde el cáncer hepático es una de las principales manifestaciones.

INTRODUCCIÓN

El término de micotoxinas se refiere a una variedad de compuestos altamente tóxicos que son el resultado de un metabolismo secundario de origen fúngico y que son producidas en diferentes sustratos bajo ciertas condiciones climatológicas.

La mayoría de las micotoxinas conocidas hasta ahora, han sido identificadas como metabolitos secundarios de los *Fungi imperfecti*, entre los que destacan los géneros *Arpergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps*, *Alternaria*, *Neotyphodium*, *Stashybotrys*, *Myrothecium*, *Phoma* y *Diploidia*.

Las micotoxinas han sido propuestas como compuestos que proveen a los hongos de las siguientes funciones:

- Papel ecológico en la naturaleza, ya que compite con la bacteria por el sustrato.
- Papel regulador en el metabolismo.
- Papel regulador en la diferenciación o al menos coincidente.

Las micotoxinas son polulantes ambientales, por lo que están presentes en todas partes del mundo y son causantes de inducir efectos tóxicos tras su inhalación o ingestión; las intoxicaciones por micotoxinas datan de la Edad Media.

Hoy en día se conocen más de 300 micotoxinas, químicamente diferentes, formadas por más de 350 especies de hongos, causantes de diferentes enfermedades (micotoxicosis). Las micotoxicosis en el hombre y los animales están caracterizadas como enfermedades relacionadas con alimentos contaminados, no contagiosas, no infecciosas, pero sí transferibles, y están asociadas con especies fúngicas. Estas pueden inducir una de las siguientes formas de intoxicación:

- 1) Micotoxicosis agudas: se producen cuando se consumen micotoxinas a concentraciones desde moderadas a altas, causando manifestaciones específicas, síndrome de enfermedad aguda, e incluso la muerte.
- 2) Micotoxicosis crónica: se producen por la ingesta de niveles de toxinas desde moderados a bajos, causando enfermedades crónicas específicas.
- 3) Micotoxicosis indirectas: producidas por la ingesta de muy bajas concentraciones de toxinas causando un aumento de la susceptibilidad a otras infecciones o enfermedades.

El modo de acción tóxica de estos compuestos está determinado por su estructura química; en general, en el hombre y en los animales, los efectos biológicos de la mayoría de las micotoxinas comprenden: hepatotoxicidad, nefrotoxicidad, actividad inmunosupresora, teratogenicidad, mutagenicidad, carcinogenicidad, estrogonicidad y acción diabetógena.

En 1993, las aflatoxinas se clasificaron como compuestos carcinógenos en el hombre (Grupo 1), mientras que las ocratoxinas y las Fumonisinás se clasificaron como posibles carcinógenos (Grupo

2B). Los tricotecenos y las zearalenona no se clasificaron como carcinógenos para el hombre (Grupo 3).

TEORÍA

Micotoxinas en los Alimentos

El contenido en humedad, pH, temperatura y tiempo, son los factores ambientales más críticos que determinan la producción de micotoxinas en un sustrato, así como de su subsiguiente prevalencia; el definitivo diagnóstico solo se puede realizar por la identificación de la toxina específica, ya que:

- 1) La presencia del hongo no indica por sí mismo que haya evidencias de producción de toxina.
- 2) Una determinada toxina puede persistir en el sustrato, aunque el hongo que la ha producido no persista mucho tiempo.
- 3) Un determinado hongo puede ser capaz de producir más de una toxina.
- 4) Una determinada toxina puede estar producida por hongos de diferentes géneros.

Productos Agrícolas

Los productos agrícolas contaminados, particularmente cereales, nueces, judías, y aceite de semillas, son la principal fuente de micotoxinas en la cadena alimentaria. El desarrollo de hongos y la producción de micotoxinas pueden producirse antes, durante y después de la cosecha.

Productos Fermentados y Alimentos Madurados con Levaduras.

El crecimiento fúngico juega un papel importante con la apariencia, color y conservación de los alimentos fermentados (quesos, carnes, y salsa de soja). A diferencia de estas prácticas tradicionales, la tecnología alimentaria moderna se presta al uso de cultivos *starter*, previamente ensayados para evitar los posibles riesgos para la salud.

La fermentación fúngica es un proceso industrial ampliamente usado en la producción de antibióticos, biomasa fúngica, ácidos orgánicos, enzimas, vitaminas o compuestos saborizantes, lo que conlleva el lógico riesgo de una contaminación por micotoxinas

Alimentos de Origen Animal

Estos pueden contener micotoxinas como resultado de que los animales sean alimentados con piensos contaminados con micotoxinas.

Alimentos Estropeados

En general, las micotoxinas son químicamente estables y resistentes, por lo que son capaces de resistir en los productos terminados.

Aflatoxinas

Las aflatoxinas son el grupo de micotoxinas más estudiado, son producidas por diferentes especies del género *Aspergillus*.

Las aflatoxinas pueden formarse en productos alimenticios tales como cacahuetes, nueces, semilla de algodón, granos de cereales en general y también en higos.

Estructura química

Aspergillus flavus y *A. parasiticus*; contienen en su molécula una mitad dihidrofurano o tetrahydrofurano unida a un anillo cumarina. El *A. flavus* produce AFB₁ y AFB₂, mientras que el *A. parasiticus* produce AFB₁, AFB₂, AFG₁ Y AFG₂. Estas aflatoxinas se dividen en dos grupos principales: grupo B (con anillo ciclopentanona) y grupo G (con un anillo lactona, basado en sus propiedades fluorescentes azul o verde). Las AFM₁ y AFM₂ son metabolitos hidroxilados de la AFB₁

AFB₂ que se encuentran en particular en la leche de consumo procedente de animales que han ingerido pienso contaminado.

Figura 1: Estructura química de la aflatoxina B (AFB₁ Y AFB₂)



Figura 2: Estructura química de la aflatoxina G (AFG₁ Y AFG₂)

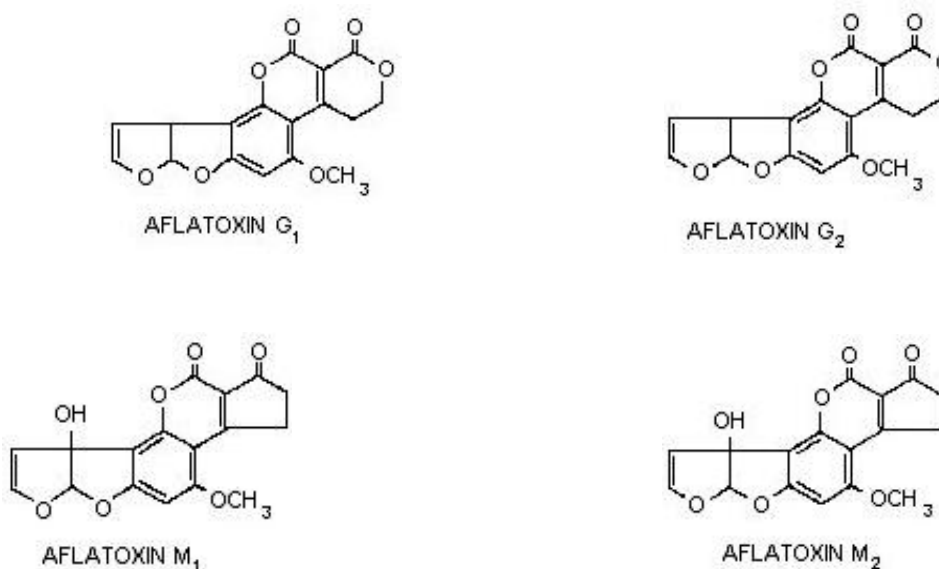


Figura 3: Estructura química de la aflatoxina M (AFM₁ Y AFM₂)

Modo de Acción

AFG₁ > AFB₂ > AFB₁. La AFB₁ es citotóxica y carcinógena, inhibe la síntesis de ADN y ARN.

La AFB₁ se biotransforma al metabolito activo AFB₁-8,9-epóxido, el cual se une covalentemente con el N en posición 7 de la guanina, formando el aducto AFB₁-N⁷-guanina en las células diana, originando mutaciones, transversiones G → T, lesiones en el ADN y subsiguientemente formación de tumores.

Este metabolito reactivo epóxido también puede hidrolizarse a AFB₁-8,9-dihidrodiol, el AFB₁-8,9-epóxido también se ha asociado en animales con coagulopatía debida a una reducción de la síntesis de vitamina K, y otros factores de coagulación, la AFB₁ induce peroxidación lipídica, lo que conduce

a un daño oxidativo en los hepatocitos, también inhibe la actividad de la fosfodiesterasa nucleótido cíclico, en tejidos tales como cerebro, hígado, corazón y riñón.

PARTE EXPERIMENTAL

Toxicidad

Las aflatoxinas son las micotoxinas más importantes y las toxinas más potentes. Son bien conocidas por su carcinogenicidad y citotoxicidad. Entre estas existen variaciones en la magnitud de la toxicidad.

El cáncer de hígado primario es uno de los cánceres humanos más prevalentes en países en desarrollo. Estudios epidemiológicos en humanos llevados a cabo en los años 70 demostraron estadísticamente que existía una asociación entre el consumo de alimento contaminado con aflatoxina y la incidencia de carcinoma hepatocelular. Se sugiere que en el cáncer hepático primario existen como condicionantes dos acciones combinadas: los alimentos contaminados con aflatoxinas, y las infecciones por el virus de la hepatitis B y C.

Estudios sobre intentos de suicidio por ingesta de aflatoxinas purificadas demostraron que dosis únicas son tan tóxicas en el hombre como dosis crónicas.

El mayor riesgo de las aflatoxinas para el hombre es su exposición crónica en la dieta, que se relaciona con un gran número de enfermedades, tales como el síndrome de Reye, cirrosis en niños (principalmente observada en la India), gastritis crónica y la enfermedad de Kwashiorkor o desnutrición proteica (originada por una ingesta inadecuada de proteínas).

En el ámbito de la alimentación animal, materias primas destinadas a la fabricación de piensos pueden estar contaminados con aflatoxinas, y vía cadena alimentaria, pueden ser un peligro potencial para la salud pública.

La Unión Europea (2001) ha establecido un nivel máximo de aflatoxinas de 4 mg/kg en productos agrícolas, y en partículas para la AFB1 un nivel máximo de 2 mg/kg. Para la AFM1 se han propuesto en leche niveles máximos entre un rango de 0,05 y 0,5 mg/kg.

Ocratoxinas

Las ocratoxinas son metabolitos producidos por diferentes especies del género *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*. Entre las ocratoxinas, la más importante es la ocratoxina A (OTA) que es producida por *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium verrucosum* y *P. viridicatum*.

OTA ha sido observada en productos agrícolas tales como granos de cereales y granos de café verde, productos de carne fermentada y vinos. Se absorbe a través del tracto gastrointestinal, y pasan a la circulación sistémica, detectándose niveles en sangre y tejidos (las concentraciones más altas se alcanzan en riñón, seguido de hígado, músculo y grasa), puede afectar al hombre vía cadena alimentaria, especialmente el cerdo se ven implicados por consumo de piensos contaminados. Debido a la alta capacidad para unirse fuertemente a las proteínas plasmáticas, la OTA tiene una semivida plasmática de eliminación larga, con valores en el cerdo de 72-120 horas y en el hombre de 840 horas. También se ha demostrado el paso de la OTA de sangre a leche, pero apenas se detecta en la leche de vaca; en rumiantes, sufre de degradación por la microflora del rumen.

Estructura Química

Las ocratoxinas son derivados 3,4-dihidro metil isocumarina unidos con un enlace amida a un grupo amino de la *L*-β-fenilalanina (estructura fenilalanina-cumarinas)

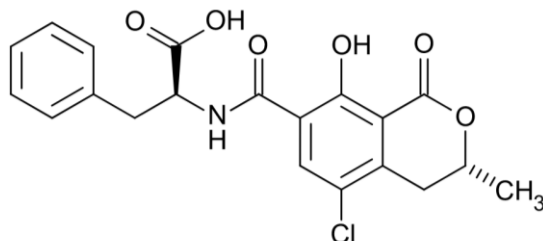


Figura 4. Estructura química de la ocratoxina A (OTA)

Modo de acción

El mecanismo de ha atribuido a la mitad lactona de su molécula, estructuralmente análoga a los lugares activo de las enzimas mitocondriales, por lo que es un sustrato que se une competitivamente, señalan una inhibición competitiva de las enzimas ATPasa, succinato deshidrogenada y citocromo C oxidasa, efectos atribuidos a una lesión celular por la formación del radical hidroxilo, vía peroxidación lipídica.

En bazo de rata, la OTA altera la síntesis de proteínas por inhibición competitiva de la enzima fenilalanil-ARNt sintetasa, efecto ligado a la mitad fenilalanina de la molécula de la OTA.

Toxicidad

Es una potente nefrotoxina en aves, peces y mamíferos, origina daño tubular renal y fibrosis. Es un carcinógeno potencial para el hombre y ha sido implicada como agente causal de tumores epiteliales del tracto urinario superior y de una nefropatía progresiva conocida como 'nefropatía endémica de los Balcanes'

Estudios epidemiológicos en humanos, indican alta incidencia de OTA en sangre, proporcionando evidencia de una exposición regular del hombre a esta toxina; sin embargo, no se han descrito casos de intoxicación aguda/

En 1998, para la OTA, la Comisión Europea estableció, para el hombre, una ingesta diaria tolerable (TDI) DE 0,005 mg/kg p.c. /día; TDI estimado a partir del nivel sin efecto observable (NOEL) obtenido en estudios en animales.

Tricotecenos

Son compuestos que contienen anillos sesquiterpenicos caracterizados por un núcleo 12,13-epoxitricoteceno. Constituyen un grupo de aproximadamente 170 sesquiterpenos, agrupados en 4 tipos, A, B, C y D en función de los grupos funcionales, tienen diferentes constituyentes en las posiciones 3, 4, 7, 8 y 15 de la molécula. Los tricotecenos se producen principalmente por varias especies de *Fusarium*, tales como *F. sporotrichioides*, *F. graminearum*, *F. poae* y *F. culmorum* y por miembros de otros géneros tales como *Myrothecium*.

Las especies *Fusarium* ocurren principalmente en granos de cereales (maíz, trigo, arroz); para su desarrollo necesitan una humedad relativamente alta y una temperatura moderada de 10 a 30°C. En general, los tricotecenos de los tipos A y B se encuentran ampliamente distribuidos en granos de cereales (trigo, maíz, avena, cebada, centeno y arroz) mientras que los de los tipos C y D raramente se producen en los alimentos.

Estructura y propiedades químicas

Las toxinas T-2 y DAS son las más tóxicas siendo solubles en disolventes no polares (como etil acetato de etilo y éter dietílico) mientras que el DON y su compuesto padre nivanelol son solubles en disolventes polares tales como etanol. El DON es un tricoteceno que se suele mostrar resistente a las condiciones de procesamiento que sufren los alimentos convencionales.

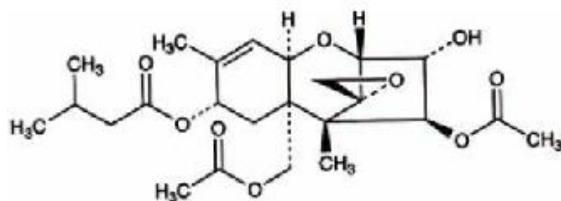


Figura 5. Estructura química de la toxina T2

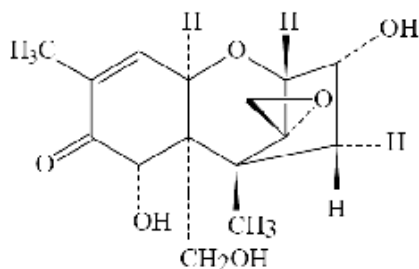


Figura 6. Estructura química del diacetoxiescirpenol IIz(DAS)

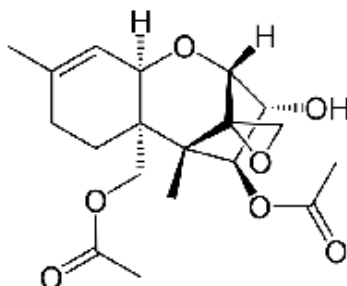


Figura 7. Estructura química del deoxinivalenol (DON)

Modo de acción

La citotoxicidad de los tricotecenos se atribuye a su potente inhibición de la síntesis de proteínas, ARN y ADN, efecto atribuido al 12,13-epoxitricoteceno. Cuando la molécula del tricoteceno se une a los polisomas y ribosomas activos, el anclaje de los péptidos se altera y las secuencias de iniciación y terminación disminuyen y el ciclo ribosomal se interrumpe.

Otros efectos tóxicos de los tricotecenos incluyen alteración de la función sanguínea, los efectos negativos de la toxina T-2 sobre la función de la membrana celular se explican por alteración del transporte de aminoácidos, nucleótidos y glucosa y alteración de la actividad del canal Ca-K.

En relación a la respuesta inmunitaria, existen datos que soportan una inhibición de la proliferación de linfocitos humanos por la toxicidad T-2, DON y DAS, inhiben la actividad fagocítica y microbicida y la producción del anión superóxido. La toxina T-2 reduce las células formadoras de colonias de macrófagos-granulocitos en médula ósea de ratón; el DON inhibe los progenitores granulomonocíticos; las toxinas T-2 y DAS inhiben los progenitores de eritoblastos humanos.

El brote de aleucia toxica alimenticia se caracteriza por atrofia de la médula ósea, agranulocitosis, angina necrótica, sepsis y muerte. Los tricotecenos del tipo B, como el DON, son menos agresivos, pero más estables y probablemente los más importantes en la práctica.

La exposición crónica a DON puede ser el factor causal de la nefropatía IgA humana, y ha sido también implicado como factor que contribuye a la etiología del cáncer esofágico en el hombre, el DON es una toxina de particular interés en el sector zootécnico; los cerdos alimentados con DON pueden conducir a pérdidas económicas debido al rechazo del alimento y al vomito.

Existen dos formas de toxicidad por tricotecenos: una forma aguda, caracterizada por signos neurológicos y una forma crónica, caracterizada por signos de necrosis dérmica, leucopenia e inflamación gastrointestinal, y hemorragias.

Se han señalado como potenciales agentes biológicos de guerra. Por ejemplo, la toxina T-2 se ha visto implicada como agente químico de la 'lluvia amarilla'. La ingesta diaria tolerable máxima provisional establecida para la toxina T-2 y para la toxina HT-2, solas o en combinación, es de 60 ng/kg p.c./día. Para el DON, la Comisión Europea (2002) ha establecido una TDI de 1 µg/kg p.c./día.

Zearalenona

La zearalenona (ZEN) es un compuesto fitoestrogénico, micotoxina principalmente originada por diversas especies de *Fusarium* tales como *F. culmorum*, *F. graminearum* y *F. sporotrichioides* responsables de los efectos estrogénicos comúnmente encontrados en los animales de granja.

Las condiciones que favorece la producción de ZEN son: una humedad relativamente alta y una temperatura moderada. ZEN se detecta ampliamente en granos de cereales, en particular maíz y trigo, así como en semillas de soja, ha sido detectada también en tejidos de animales de consumo.

Estructura química

Tiene estructura de lactona resorcíclica, corresponde con el 6-(hidroxi-6-oxo-trans-1-undec-2-en-1-ilo)resorcinol. Está relacionada con el compuesto anabólico zeranól.



Figura 8 estructura química de la zearalenona (ZEN)

Modo de acción

La ZEN es conocida en animales por sus efectos estrogénicos. Se une a los receptores de estrógeno con efectos sobre la transcripción, estrógeno dependiente, en el núcleo.

Hay datos en el hombre que demuestran que la ZEN estimula el crecimiento de células cancerosas en tejidos que contienen receptores estrogénicos.

Toxicidad

La ZEN en los alimentos es un poderoso estrógeno y está implicada en diferentes incidentes de cambios precoces que se producen en los niños durante el período de la pubertad tiene propiedades estrógenicas y anabólicas.

Se han investigado las fases del metabolismo o biotransformación de la ZEN en varias especies animales y en el hombre. En el hombre en la orina principalmente se observa la presencia de ZEN y de su metabolito α -zearalenol, ambos en forma de glucuro conjugados. En términos de toxicidad, la actividad estrógenica es alrededor de unas 10 veces mayor que la ZEN.

Para ZEN se ha establecido, por la comisión europea (200), una ingesta diaria tolerable temporal (t-TDI) de 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.c/día.

Fumonisin

Las Fumonisin (principalmente las Fumonisin b1 y b2), son metabolitos secundarios sintetizados por *F. moniliforme*, *F. proliferatum* y *F. verticillioides*, entre otros *Fusarium*.

La presencia de Fumonisin se ha demostrado en maíz y otros cereales cultivados en clima tropical y subtropical y también en alimentos destinados a los animales procedentes de estos lugares.

Estructura química

La Fumonisin B1 (FB1) y Fumonisin B2 (FB2) poseen una unidad hidrocarburo de cadena larga, estructura parecida a la de los esfingolipidos, esfingosina y esfinganina, por lo que juega un papel en su toxicidad.

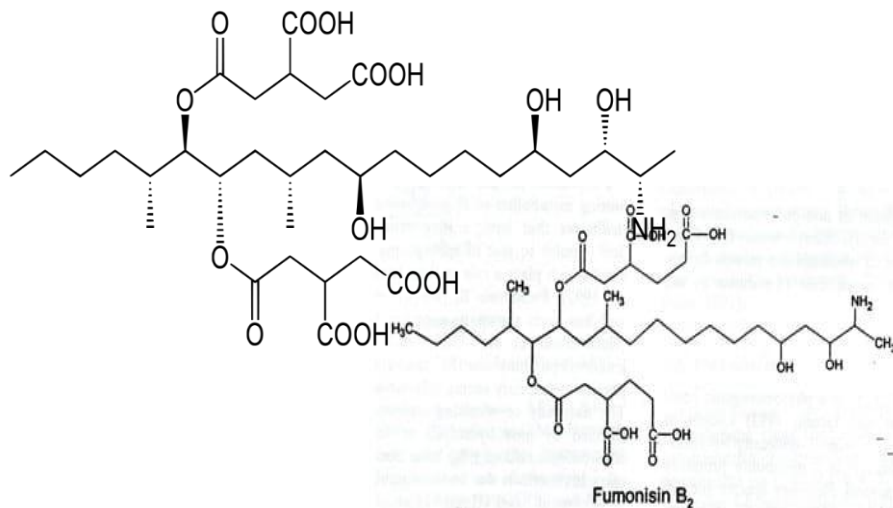


Figura 9 estructura química de la Fumonisina B1 y B2.

Modo acción

Las Fumonisinas son citotóxicas y carcinogénicas. Los modos de tales acciones, sin embargo, no están completamente elucidados. La mitocotoxina FB1, altera el metabolismo de esfingolípidos por inhibición de la enzima esfingosina N-acetiltransferasa. También inhibe otras enzimas intracelulares tales como proteína fosfatasa arginosuccinato sintetasa.

Con respecto a su acción carcinógena, se ha sugerido que la acumulación de bases de esfingoides, orinada por FB1, puede ser causa de una consecuente alteración de la síntesis de ADN, así como una alteración de la señal celular del AMPc y de la proteína quinasa C, originando finalmente una disrupción del ciclo celular normal. El papel carcinógeno de la FB1 también puede estar asociado a su efecto inductor de enzimas microsomales hepáticas, principalmente de las subfamilias P4501A Y P4502E.

Toxicidad

FB1 se ha demostrado que causa inmunosupresión, neurotoxicidad, hepatotoxicidad, nefrotoxicidad, teratogenicidad y carcinogenicidad, por lo que es claro que la FB1 presenta un amplio riesgo para la salud animal y salud pública.

Se ha establecido por la Comisión Europea (2001) una TDI para las FB1, FB2, y FB3 (solos o en combinación) de 2 µg/kg p.c/ día.

Moniliformina

La Moniliformina es una micotoxina producida por varias especies de *Fusarium*, principalmente *F. proliferatum* y se encuentra comúnmente en los granos de maíz. Puede ser transferida a la siguiente generación de cosechas y sobrevivir durante años en el suelo.

Estructura química

La Moniliformina, es una sal sódica o potásica del 1-hidroxi-ciclobuteno-3,4-diona.

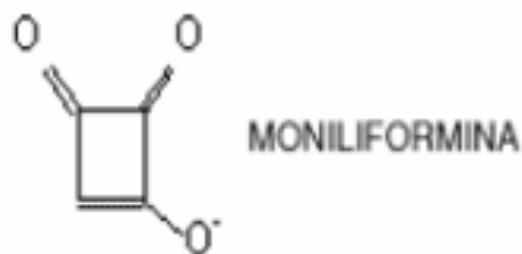


Figura 10 estructura química de la Moniliformina

Modo de acción y toxicidad

La acción citotóxica de la Moniliformina se ha atribuido a la inhibición de la enzima piruvato deshidrogenasa. Se ha demostrado que la Moniliformina incrementa la permeabilidad cardíaca en ratas jóvenes y patitos, sugiriendo un mecanismo que induce la enfermedad de Keshan en el hombre.

Alcaloides del cornezuelo de centeno

Los alcaloides del cornezuelo de centeno se producen por el *Claviceps purpurea*, que crece en las espigas de los pastos y cereales. Los hongos forman el esclerocio que son un estadio de hibernación. Durante el almacenamiento, el esclerocio puede terminar entre los granos de los cereales. La formación de alcaloides se favorece especialmente en el centeno antes de almacenarse por una humedad del aire relativamente alta y temperaturas moderadas de 10 a 30°C.

Estructura química

Los alcaloides del cornezuelo de centeno están estructuralmente relacionados con los fármacos alucinógenos conocidos como el ácido lisérgico dietil amina. La ergotamina como estructura básica de estos alcaloides. Los más importantes son ergonovina (ergometría), ergotamina y ergocristina.

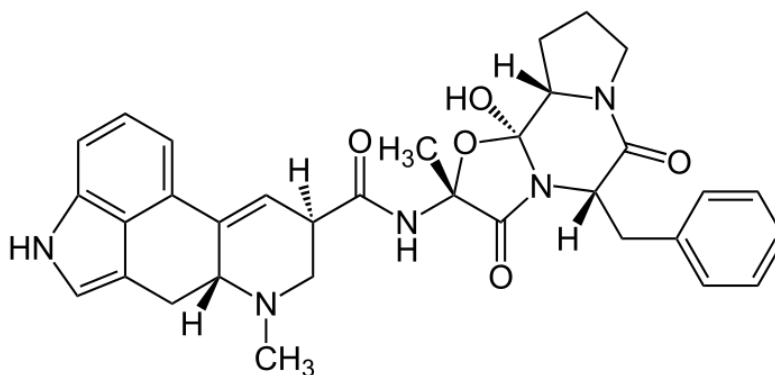


Figura 11 estructura química de la ergotamina.

Modo de acción

Son conocidos por sus efectos sobre receptores del sistema nervioso. El efecto principal de los alcaloides del cornezuelo de centeno es la estimulación de la fibra lisa. Los alcaloides del cornezuelo de centeno, estructuralmente similares a las aminas biógenas, se ha demostrado también actúan sobre los receptores de aminas biógenas, afectando la neurotransmisión.

Toxicidad

Los alcaloides del cornezuelo de centeno producen dos tipos de ergonismo en el hombre y en los animales caracterizados por convulsiones y gangrena.

Patulina

La Patulina es una micotoxina que está principalmente por *penicillium expansum*, *p. patulinum* y *byssochlamys nivea*. La Patulina aparece en vegetales y frutas. Patulina es un indicador de mala práctica de fabricación más que una seria amenaza para la salud humana y animal. Las temperaturas

moderadas, el alto contenido de humedad y un pH relativamente bajo son factores que favorecen el crecimiento de estos hongos implicados en la formación de Patulina.

Estructura química: la Patulina es una lactona cíclica, estable bajo las condiciones de procesado y conservación de los zumos de fruta.

Toxicidad: causa en animales experimentales hemorragias, formación de edema y dilatación del tracto gastrointestinal. Para la Patulina, jecfa ha establecido una tdi de 0,4 ug/kg p.c./día.

Esterigmatocistina

La Esterigmatocistina es una micotoxina producida por *aspergillus versicolor* y *a. nidulans*, aparece ocasionalmente en granos de cereales y en la capa más externa de los quesos duros, cuando han sido colonizados por el hongo *a. versicolor*, entre los factores que estimula el crecimiento fúngico y la producción de la toxina en el queso son la lactosa, la materia grasa y algunos productos de hidrólisis de la materia grasa.

Estructura química: está relacionada estructuralmente con las aflatoxinas y es igualmente estable.

Toxicidad: está considerada como una micotoxina con potencial carcinógeno menos potente que la aflatoxina b¹.

RESULTADOS.

Prevención de métodos de control de las micotoxinas.

Se han propuesto diferentes alternativas para minimizar los efectos perjudiciales surgidos por la aparición de micotoxinas:

1. Prevenir la formación de micotoxinas en productos agrícolas.
2. Descontaminar los alimentos destinados al hombre y los animales, eliminando o destruyendo las micotoxinas presentes.
3. Interviniendo en el desarrollo de la micotoxicosis, añadiendo sustancias a los productos alimenticios contaminados para reducir la biodisponibilidad oral de micotoxinas o para contrarrestar los efectos tóxicos esperados.

Existen numerosas estrategias para descontaminar los productos agrícolas, como lo son los tratamientos físicos que incluyen inactivación térmica, microondas, irradiación con rayos gamma y rayos x, luz ultravioleta, tratamiento con una amplia variedad de sustancias químicas y, más recientemente, tratamiento con ozono generado eléctricamente y procesos de fermentación que han sido ensayados para destruir o inactivar las micotoxinas presentes en los productos agrícolas. Hasta el momento, los resultados más prometedores se han obtenido con los procesos de fermentación en los que bacterias, levaduras o enzimas fúngicas facilitan la biodegradación y destoxicación de las micotoxinas a temperaturas moderadas. En lo referente a intervención de las micotoxicosis se han llevado a cabo diversas estrategias alimenticias para reducir la biodisponibilidad oral de las micotoxinas, principalmente el tratamiento con <<adsorbente de micotoxinas>> o bien el tratamiento con ciertas sustancias para contrarrestar los efectos esperados de las micotoxinas presentes en los alimentos contaminados.

El control de la contaminación de micotoxinas en los alimentos es lo más común, este control no es económicamente factible en muchas partes del mundo. La implantación de otras estrategias puede ser una opción aconsejable para reducir el impacto sobre la salud pública derivado de la exposición de micotoxinas, particularmente del cáncer.

Muchos datos nos indican que la quimio protección es extremadamente efectiva en casos de exposición a aflatoxinas en animales de laboratorio. Sustancias químicas como oltipraz o clorofilina son capaces de prevenir la formación del epóxido afb¹ y también capaces de inducir enzimas glutations-transferasas en hepatocitos, como principales vías de destoxicación. Ambos compuestos, han sido implicados en estrategias de quimio protección en áreas geográficas con carcinoma hepatocelular endémico.

También es del todo importante señalar el interés actual en el desarrollo de nuevas sustancias adsorbentes de las micotoxinas presentes en los alimentos, como otra estrategia en la prevención de micotoxicosis en el hombre.

Esta es una de las prácticas más frecuentes y comunes que se usan para reducir las micotoxicosis en los animales de granja y como consecuencia reducir el carry-over o la transferencia de las micotoxinas desde los piensos contaminados a los productos alimenticios derivados de los animales de abasto.

También sustancias químico protectoras pueden ser adicionales a los piensos para controlar a las micotoxicosis. Se ha demostrado la capacidad químico protectora de diferentes sustancia naturales y de diferentes sustancias de síntesis, reduciendo la toxicidad de micotoxinas o bien reduciendo la formación de la toxina y mejorando su destoxicación.

CONCLUSIÓN.

Las micotoxinas, son consideradas los principales contaminantes naturales de diversos alimentos, son definidas como los metabolitos secundarios tóxicos producidos por hongos filamentosos. No obstante, hoy se acepta como la definición más apropiada la dada por Pitt (1996), según la cual se trata de "metabolitos fúngicos cuya ingestión, inhalación o absorción cutánea reduce la actividad, hace enfermar o causa la muerte de animales (sin excluir las aves) y personas".

Se considera que alrededor del 25% de las cosechas anuales están contaminadas con algún tipo de micotoxinas y que esos valores pueden ser aún mayores, del orden del 80% e incluso del 100%, y corresponden a aquellas regiones cuyos cultivos estuvieron sometidos a condiciones de estrés hídrico, ataque de insectos o fueron cosechados y/o almacenados en condiciones inapropiadas.

Una vez que el problema está instalado es muy difícil corregirlo e impacta negativamente en la rentabilidad del sistema, al reducir la productividad y aumentar los costos de producción ya que, a los ya existentes, se suman los recursos económicos y técnicos orientados a subsanar sus efectos. Normalmente las medidas se toman después de que los animales manifiestan síntomas de intoxicación por el consumo de alimento contaminado cuando gran parte de daño ya se produjo.

Es por ello que es necesario actuar en forma preventiva, aplicando programas de control estrictos y respetando las normas de seguridad a lo largo de toda la cadena de producción, transporte, almacenamiento, procesado e incorporar un adecuado manejo de los sustratos y raciones en el criadero, para poder evitar o reducir con ello la aparición de los hongos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Adhikari M, Ramjee G, Berjak, P (1004). Aflatoxin kwashiorkor and morbidity. *Natural toxins* 2(1):1-3
2. Ayrak AM, Dubech N, Le Bars J, Escoula L(1992). *In vitro* effect of diacetoxycirpenol and deotoxynivalenol on microbicidal activity of murine peritoneal macrophages. *Mycopathologia* 120: 121-127.
3. Betina V (1989). Micotoxins: Chemical, biological and environmental aspect. *Bioactive molecules*.
4. Bunner DL, Morris ER (1988). Alteration of multiple cell membrane functions in L-6 myoblast by T-2 toxin: an important mechanism of action. *Toxicol Applied Pharmacol* 92: 113-121.
5. Carnaghan RBA, Hartely RD, O Kelly J (1963). Toxicity and fluorescence properties of the aflatoxins. *Nature* (London) 200: 1101-1102.
6. Creppy EE (2002). Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicol Letters* 127: 19-28.
7. Fink-Gremmels J, Leisner L (1990) Mycotoxins; their implications for human and animal health. *Veter Quaterly* 21: 115-120.
8. Gattthercole PS, Thiel PG, Hofmery JH (1986) Inhibition of pyruvate dehydrogenase complex by moniliformin. *Biochem J* 233: 719-723.
9. Groopman JD, Zhu JQ, Donae aRP, Pikul (1992) Molecular dosimetry of urinary aflatoxin-DNA adducts in people living in Guangxi region. 52: 45-52.
10. Jimenez M, Manez M, Hernandez E ((1996). Influence of water activity and temperature on the production of zearalenone in corn by three *Fusarium* species. *Int J food microbiology* 29(2/3): 417-421.
11. Karlovskyy P (1999) Biological detoxification of fungal toxins and its use in plant breeding, feed and food production. *Natural toxins* 7: 1-13.
12. Martinez Iarrañaga MR, Anadon A, Díaz MJ, Fernández Cruz ML, Toxicokinetics and oral bioavailability of trichothecenes on rat hematopoietic progenitors. 12: 41-49.

UTILIZACIÓN DE *TAGETES ERECTA* Y HONGOS *MICORRÍZICOS ARBUSCULARES* EN LA REMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON CROMO

Juana Rodríguez Morales, Mónica Herrejón Alvarado, Miguel Martínez Trujillo, Yazmín Carreón Abud

Universidad Michoacana De San Nicolás De Hidalgo

RESUMEN

La contaminación por metales pesados (MP) es producto de las actividades antropogénicas modernas. Para contrarrestar esta contaminación varias investigaciones se han enfocado en las plantas y microorganismos que pueden absorber o inmovilizar los MP. Se ha denominado a esta tecnología como fitorremediación; como una alternativa para la limpieza de ambientes contaminados. Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) forman simbiosis con las raíces de las plantas, considerada por algunos autores como “raíces de hongos” que “viven juntos” o bien, hongos que viven en las raíces de las plantas, es una asociación mutualista entre los hongos del suelo y las raíces de las plantas vasculares que desempeñan un papel fundamental en la limitación y la translocación de los MP a los tejidos de las plantas, mitigando así los efectos de su toxicidad en las plantas. En particular el Cromo (Cr) es un metal altamente tóxico para los microorganismos y para las plantas, debido a su frecuente uso industrial. Por lo que se planteo analizar el efecto de la inoculación micorrízica arbuscular en la planta de *Tagetes erecta* L. (cempasúchil), crecidas en suelo contaminado con Cr (VI), sobre la protección y acumulación de Cr (VI). Se evaluó el crecimiento, la colonización micorrízica, altura de la planta, longitud radical y biomasa. Los resultados muestran que la inoculación con HMA incrementó de manera significativa el tamaño de las plantas, mientras el aumento de la concentración de Cr (VI) disminuyó dicho crecimiento. En general, este mismo comportamiento se observó en el peso fresco, seco de la raíz y parte aérea. La longitud de la raíz fue mayor en plantas inoculadas con respecto a las no inoculadas. Se concluye que los HMA le proporcionan la protección por el estrés ante el Cr (VI). Sin embargo, existe una compleja dinámica en las interacciones HMA-planta-metal por lo que resulta necesarios estudios en campo.

INTRODUCCIÓN

El Cromo (Cr) es un contaminante importante del suelo, por su amplio uso en la industria en: aleaciones, fabricación de acero, curtido de pieles, galvanoplastia, producción de pigmentos y pinturas (Nath *et al.*, 2005). Dichas actividades han incrementado los niveles de este metal en el ambiente lo que representa un peligro potencial para los organismos vivos. El Cr se presenta principalmente en dos estados de oxidación, el Cr (III) (trivalente) y el Cr (VI) (hexavalente), de los cuales el último es el más tóxico. El Cr (IV) usualmente se encuentra en iones cromato CrO_4^{2-} o dicromato $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ (Madhavi *et al.*, 2013), los cuales atraviesan fácilmente las membranas biológicas y puede ser transportado activamente al interior de las células por medio del transportador de sulfato (Kim *et al.*, 2006), por lo que puede resultar nocivo para plantas, animales y microorganismos que habitan en el suelo, además puede afectar a los seres humanos debido a sus efectos carcinogénicos tóxicos y potentes (Madhavi *et al.*, 2013).

Debido a lo anterior existe la necesidad de reducir los niveles de contaminación en el ambiente. Para enfrentar dicha contaminación se han empleado numerosos métodos físico-químicos convencionales, para remover metales pesados de los suelos. Estas tecnologías han presentado como principales desventajas costos elevados y el uso de sustancias no deseables para el ambiente en la mayoría de los métodos empleados. Considerando estas limitaciones se ha buscado alternativas de solución sobre los procesos convencionales para la recuperación de suelos contaminados. Varias investigaciones se han enfocado en las plantas y microorganismos que pueden absorber o inmovilizar muchos tipos de contaminantes, incluidos metales, o transformar el metal, lo cual puede reducir su biodisponibilidad (Rajendran *et al.*, 2003) denominando a esta tecnología como fitorremediación; la cual surge como una alternativa nueva para la limpieza de ambientes contaminados (Boonyapookana *et al.*, 2002). El uso de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en combinación con plantas es un enfoque alternativo para mejorar la eficacia de la fitorremediación. Esta relación es considerada como simbiosis micorrízica y es descrita por algunos autores como “raíces de hongos” que se encuentran “viviendo juntos” o bien, hongos que viven en

las raíces de plantas (Boucher *et al.*, 1982; Leung y Poulin, 2008). Esta asociación mutualista entre los hongos del suelo y las raíces de las plantas vasculares representa una compleja dinámica constituida por una diversidad de interacciones que desempeñan un papel fundamental en la nutrición de las plantas y la estabilización del suelo a través de una variedad de condiciones del medio, incluyendo las deficiencias de metales y/o de nutrientes (Gäuhre y Pazkowski, 2006). Este tipo de relación conforma un componente importante en la estructura y fertilidad de los suelos (Van der Heijden *et al.*, 1998), ya que los hongos micorrízicos son bien conocidos como contribuyentes para una mejor absorción de macronutrientes (fósforo y nitrógeno), además de la absorción de micronutrientes que se encuentran en cantidades traza como algunos metales y cuya limitación en las plantas, provoca un crecimiento deficiente en las mismas. Los HMA pueden limitar la translocación de los MP, mitigando los efectos de su toxicidad. Existen numerosos ejemplos exitosos de esta combinación utilizada para absorber metales pesados, proponiendo a los HMA como componentes beneficiosos en el funcionamiento y la recuperación de los ecosistemas afectados con metales (Joner *et al.*, 2000; Miransari, 2011; Audet, 2012). Bajo esta condición, se ha reportado que en algunos casos las plantas micorrizadas pueden mostrar mayor captación de metales pesados por la raíz y aumentar el transporte de estos a la parte aérea de la planta (Rabie, 2005), mientras que en otros casos el uso de HMA contribuye a la inmovilización del metal en las raíces de las plantas o en el suelo (González-Chávez *et al.*, 2009). En comparación con otros metales pesados, se han realizado pocos estudios sobre la fitoextracción de Cr y, por lo tanto, se ha encontrado que muy pocas plantas acumulan Cr en sus tejidos. Las plantas herbáceas se han convertido en plantas adecuadas para la fitoextracción debido a su corto ciclo de crecimiento y rápida acumulación de biomasa.

Basados en lo anterior, elegimos a la planta *Tagetes erecta* L. (cempasúchil) para este estudio, debido a su buen crecimiento y alta biomasa. Investigamos la respuesta de esta planta a diferentes gradientes de concentración de Cr (VI) en el suelo tratado en asociación con diferentes HMA, para observar los cambios en el crecimiento y biomasa.

TEORÍA

Una amplia gama de prácticas industriales y agrícolas aumentan el nivel de tóxicos en el medioambiente, causando preocupación por la contaminación causada por el Cr (VI). La contaminación del medio ambiente por el Cr (VI), ha sido la mayor preocupación en los últimos años (Zayed y Terry, 2003). Las curtiembres descargan numerosos metales pesados y compuestos contaminantes en las corrientes de agua que posteriormente llega al suelo por irrigación (Nath *et al.*, 2008). Debido a la presencia de exceso de oxígeno en el medio ambiente, Cr (III) se oxida a Cr (VI), que es extremadamente tóxico y altamente soluble (Cervantes *et al.*, 2001). Además, la descarga de desechos industriales y la contaminación del agua subterránea han aumentado drásticamente la concentración de Cr (VI) en el suelo (Bielicka *et al.*, 2005). Durante la fabricación del cromato, el depósito de los residuos de Cr (VI) y el riego de aguas residuales que causan una grave contaminación por Cr (VI) en las tierras de cultivo. Con la implementación de la agricultura moderna, hay una liberación continua de Cr (VI) en el medio ambiente por medio de residuos de Cr, que perturban la vegetación y su calidad para los humanos (Duan *et al.*, 2010). El Cr (VI) es altamente móvil en el suelo, extremadamente tóxico para los organismos vivos con potencial mutagénico, carcinogénico y teratogénico, por lo que el Cr (VI) presenta un riesgo potencial para la salud. Cr (VI) es altamente reactivo con otros elementos. Se ha observado toxicidad por Cr (VI) en suelos incluso a niveles muy bajos (<1 mg kg / 1 Cr (VI)) (Martí *et al.*, 2013).

En la fitorremediación, las plantas hiperacumuladoras se utilizan para extraer y transformar metales tóxicos, como Cr (VI), en compuestos no tóxicos e inmóviles (Pulford *et al.*, 2000). Las plantas hiperacumuladoras Cr pueden acumular > 1,000mgCrkg⁻¹ (DW) en las hojas de las plantas. Estas plantas pueden tolerar metales pesados a través de quelación con ligandos apropiados de alta afinidad, biotransformación de reductores y compartimentalización en el citoplasma o en la vacuola. Por lo tanto, la inmovilización de Cr en vacuolas en las células de la raíz de la planta puede representar un mecanismo importante de detoxificación de Cr por la planta (Meier *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2011), de tal forma que se han propuesto que especies de plantas y microorganismo que viven en una zona muy cerca a la raíz pueden ser empleados para remediar suelos con metales pesados y en particular el Cr (VI).

Se observó que las asociaciones simbióticas con hongos micorrízicos aumenta el crecimiento de *T. erecta* y la acumulación de Cu en ambientes con alta concentración de Cu (Castillo *et al.*, 2011). Coelho *et al.*, (2017) investigaron el potencial de *T. erecta* en la fitorremediación de Cr (III), encontraron que la planta muestra mecanismos de tolerancia al Cr (III), proponiendo a *T. erecta* como planta hiperacumuladora de Cr. Sin embargo, este estudio se realizó en solución nutritiva, y los estudios sobre confirmación de la especie como hiperacumuladora de Cr deben llevarse a cabo en suelos. Además, es necesario estudios que muestren el efecto de los HMA en la interacción con la planta que pueden ser clave para mejorar la eficacia de la fitorremediación. En base a esto, tuvimos el siguiente objetivo, analizar el efecto de la inoculación micorrízica arbuscular en la planta de *T. erecta* (cempasúchil), crecidas en suelo contaminado con Cr (VI), sobre la protección y acumulación de Cr (VI).

PARTE EXPERIMENTAL

Las semillas fueron desinfectadas superficialmente antes de su germinación por agitación en alcohol al 95% (v/v) por 5 minutos y posteriormente con cloro comercial (Cloralex) al 10% por 5 minutos, finalizando con 5 enjuagues en agua tridestilada estéril. Posteriormente, las semillas fueron germinadas en un sustrato de perlita, peat-moss y vermiculita en relación 1:1:1. El sustrato fue previamente esterilizado en autoclave.

Previo al trasplante se esterilizo el sustrato dos veces en autoclave a 120 °C durante 50 min, las macetas fueron desinfectadas superficialmente con cloro comercial (cloralex). Las plántulas de aproximadamente 3 cm fueron trasplantadas a macetas con 700 g de sustrato y 28 % de inóculo de HMA (González-Chávez *et al.*, 1998). Los inóculos se consiguieron mediante la extracción de esporas propagadas en macetas trampa, de pH 3,9 en suspensión agua-suelo, proveniente de cultivos de maíz de la localidad de, Tzurumutaro Michoacán. Para la inoculación de HMA se realizó previamente una cuantificación del número de esporas presentes en 50g de suelo inoculado, por el método de tamizado en húmedo y decantación de (Gerdemann y Nicholson, 1963).

El experimento consistió de plantas inoculadas y no inoculadas, con y sin Cr en el sustrato. Posteriormente se colocó el inóculo de 200 g de *Rhizophagus intraradices*, *Gigaspora gigantea* y un inóculo nativo. A las cinco semanas de trasplante se aplicó riego con una solución de cromato de potasio (K_2CrO_4) hasta dejar a capacidad de campo, aplicando concentraciones: 0, 250, 500, 1000 μM . Se establecieron 4 tratamientos con 1 control absoluto, con 6 repeticiones por tratamiento. Se tenía 96 unidades experimentales.

Las plantas de *T. erecta* L. se dejaron crecer durante 11 semanas en el invernadero bajo una temperatura de 25 a 30 °C. El riego durante el crecimiento fue de cada 2 días a capacidad de campo. A la tercera semana de crecimiento se realizó la re-inoculación por medio de esporas de cultivo monoaxénico de *R. intraradices* para asegurar mayor presencia de esporas. Las plantas fueron fertilizadas cada semana con 60 ml de solución nutritiva Long-Asthon sin fosforo con el propósito de evitar síntomas de desnutrición en las plantas sembradas.

Previo a la contaminación con las diferentes concentraciones de K_2CrO_4 a los tratamientos, a las 5 semanas de crecimiento, se realizó una toma de muestras de raíces de los tratamientos que contenían inóculos, para asegurarnos si la simbiosis ya se encontraba presente.

Durante el crecimiento de *T. erecta* se realizaron mediciones semanales de parámetros biométricos como: altura, número de flores, sanas o enfermas y de sobrevivencia.

Las plantas fueron cosechadas y limpiadas a las 11 semanas después del trasplante. Se limpiaron manualmente para retirar el sustrato. Se midió la altura de la planta, longitud de la raíz, número de hojas, flores, botones y número de plantas sanas o enfermas. Las plantas se pesaron por separado raíz y parte aérea. De las plantas inoculadas con los HMA se tomaron muestras de raíces y se almacenaron en el congelador para luego cuantificar la colonización. Para determinar las masas secas las raíces y las partes aéreas se colocaron las plantas en bolsas de papel y se secaron a 60 °C, durante 72 horas hasta peso constante en un horno.

Se determino el grado de colonización total evaluando estructuras típicas de los HMA como hifas, arbusculos y vesículas. Bajo la técnica de Phillips & Hayman (1970), se tiñeron las raíces micorrizadas con el colorante azul tripano. Las raíces teñidas se cortaron en segmentos de 1 cm, colocadas en portaobjetos y se observaron directamente al microscopio con el aumento de 40X, para registrar la colonización.

Los datos se analizaron utilizando un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de Tukey con la finalidad de examinar el nivel de significancia ($p < 0,05$) de los tratamientos y su interacción. El tratamiento estadístico se realizó utilizando el programa JMP versión 8.

RESULTADOS

Sobrevivencia. La sobrevivencia se determinó al final del experimento. En los tratamientos control, sobrevivieron el 100% de las plantas, la menor sobrevivencia fue de 83.40% en los tratamientos con 500 μM de Cr (VI) inoculadas con *R. intraradices* y el I. nativo, se obtuvo este mismo resultado en el tratamiento I. nativo+1000 μM Cr (VI) como lo muestra el Cuadro. 2.

	0 μM Cr (VI)	250 μM Cr (VI)	500 μM Cr (VI)	1000 μM Cr (VI)
Control	100%	91.70%	100%	91.70%
<i>R. intraradices</i>	100%	91.70%	83.40%	100%
<i>G. gigantea</i>	100%	91.70%	100%	91.70%
I. nativo	100%	100%	83.40%	83.40%

Cuadro. 2 Porcentaje de sobrevivencia en plantas de *T. erecta* a las 11 semanas del trasplante, con y sin inoculación con HMA y diferentes concentraciones de Cr.

Colonización micorrízica en las raíces de raíz de las plantas de *T. erecta* L. Los resultados mostraron que los HMA lograron colonizar y formar estructuras simbióticas dentro de las raíces de las plantas de *T. erecta*. El porcentaje de colonización menor fue de 1% del inoculo nativo a una concentración de 500 μM Cr (VI) y el valor más alto fue de 50% de *G. gigantea* a una concentración de 250 μM Cr (VI). El porcentaje alcanzado por *R. intraradices* fue de 33% de colonización en el tratamiento con 500 μM Cr (VI), lo que evidencia que *G. gigantea* fue efectivo al colonizar las raíces de *T. erecta* (Fig. 1).

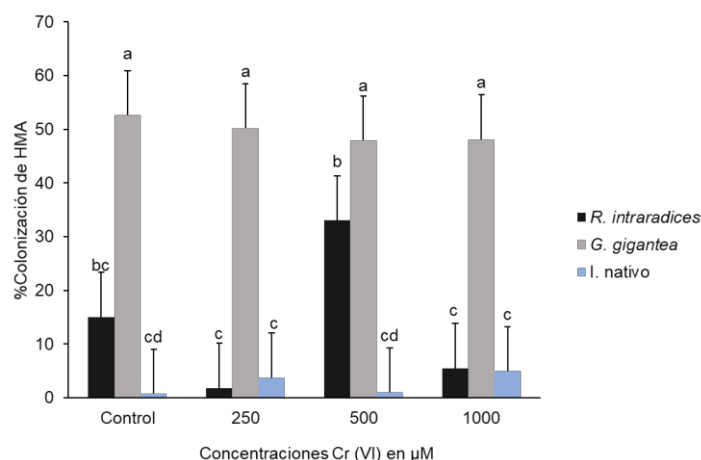


Fig. 1 Porcentaje de colonización de raíces de *T. erecta* inoculadas con *R. intraradices*, *G. gigantea* y un inoculo nativo, expuestas a 250, 500, 1000 μM de Cr (VI).

Altura y peso seco de parte aérea de plantas de *T. erecta* L. Las plantas inoculadas con *R. intraradices* obtuvieron la mayor altura que varía entre 11.8 cm a 13.75 cm con y sin Cr (VI), la menor altura fue en la concentración 1000 μM de Cr (VI). Además, se encontró una interacción significativa entre *G. gigantea* y Cr (VI) respecto a la altura de las plantas, lo que demostró que *R. intraradices*, *G. gigantea* tienen un efecto positivo en el tamaño de la planta ante la presencia de Cr (VI), (Fig. 2).

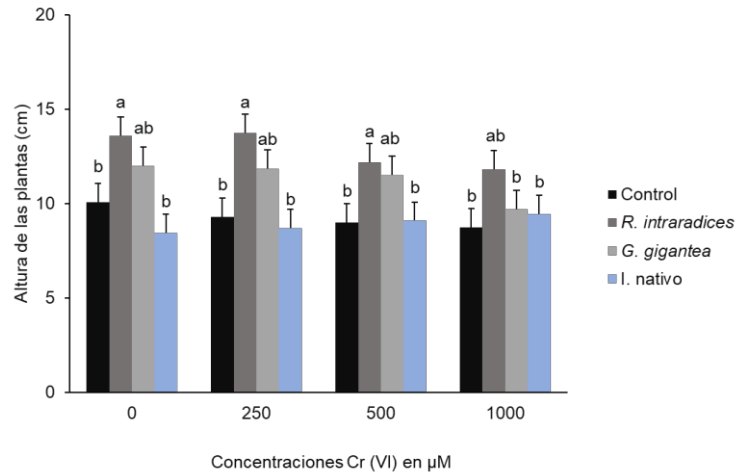


Fig. 2 Altura promedio de las plantas *T. erecta* inoculadas con *R. intraradices*, *G. gigantea* y un inoculo nativo, expuestas a 250, 500, 1000 µM de Cr (VI).

Respecto al peso seco de la parte aérea, se observa una variación en valores obtenidos, no obstante, el tratamiento *R. intraradices*+250 mostro un peso seco promedio de 0.06 g, siendo el mejor tratamiento. Esto significa que este parámetro no es suficiente para demostrar el efecto de la interacción planta-Cr-HMA y es necesario conocer la absorción de Cr en las plantas bajo los distintos tratamientos (Fig. 3).

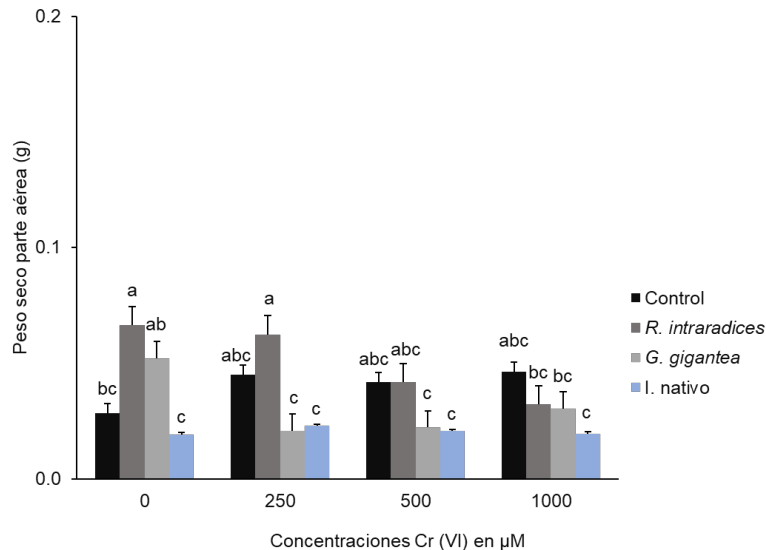


Fig. 3 Peso seco parte aérea de las plantas *T. erecta* inoculadas con *R. intraradices*, *G. gigantea* y un inoculo nativo, expuestas a 250, 500, 1000 µM de Cr (VI).

Longitud de la raíz y peso en plantas de *T. erecta* L. La longitud de la raíz fue mayor en las plantas inoculadas con *R. intraradices* y *G. gigantea* a una concentración 1000 µM Cr (VI), 33 cm y 35 cm respectivamente, a diferencia del control con 24 cm de longitud. Encontrándose, que hay cierta tendencia a una mayor longitud con el aumento de la concentración de Cr (VI), en tratamientos sin Cr (VI) la raíz mostro menor longitud, los tratamientos que se les agrego 500 y 1000 µM de Cr (VI)

mostraron longitudes promedio de 13.8 cm. Lo que nos puede estar indicando que en las plantas contaminadas aumentaron su longitud de la raíz gracias a las micorrizas (Fig. 4)

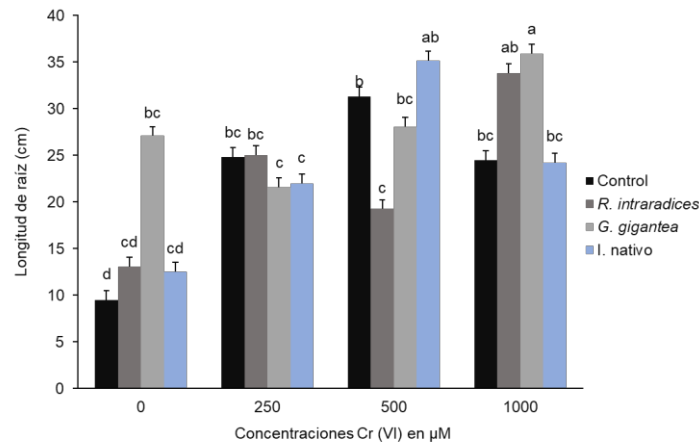


Fig. 4 Longitud de la raíz de las plantas *T. erecta* inoculadas con *R. intraradices*, *G. gigantea* y un inoculo nativo, expuestas a 250, 500, 1000 µM de Cr (VI).

El peso seco de la raíz muestra un aumento de peso en las plantas inoculadas con *G. gigantea* y *R. intraradices*, se muestran diferencias entre los diferentes inóculos usados y en la cantidad de Cr (VI) aplicado, el peso seco fue mayor en las plantas colonizadas con *R. intraradices* y *G. gigantea*. Podemos observar además que el peso seco disminuyó ligeramente en los tratamientos con 1000 µM Cr (VI) (Fig. 5), lo cual es atribuido a que *G. gigantea* fue la que colonizó en mayor porcentaje seguida del inoculo de *R. intraradices* (Fig. 1).

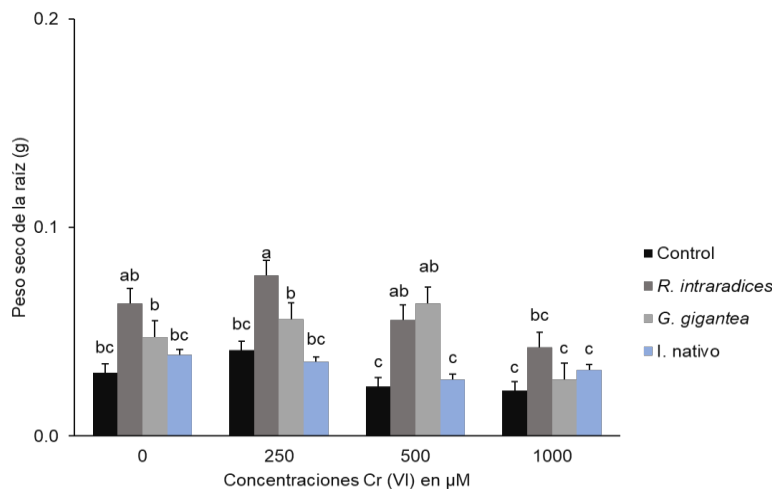


Fig. 5 Peso seco de la raíz de las plantas *T. erecta* inoculadas con *R. intraradices*, *G. gigantea* y un inoculo nativo, expuestas a 250, 500, 1000 µM de Cr (VI).

En general en las plantas que no recibieron estrés por Cr el número de hojas fue mayor, además en plantas con los hongos *R. intraradices* y *G. gigantea* aumentaron significativamente el número de hojas a pesar de que crecieron en el suelo contaminado con Cr, lo que no ocurrió en las plantas con

inoculo nativo ya que mostraron incluso un menor porcentaje de estos atributos a diferencia del control, esta observación puede estar relacionada con el bajo porcentaje de colonización encontrado en las raíces con este inoculo (Fig. 1). En los tratamientos *R. intraradices* y los de I. nativo el número de hojas disminuyó ligeramente con el aumento de la concentración de Cr, aunque no significativamente diferente en todas las partes de la planta.

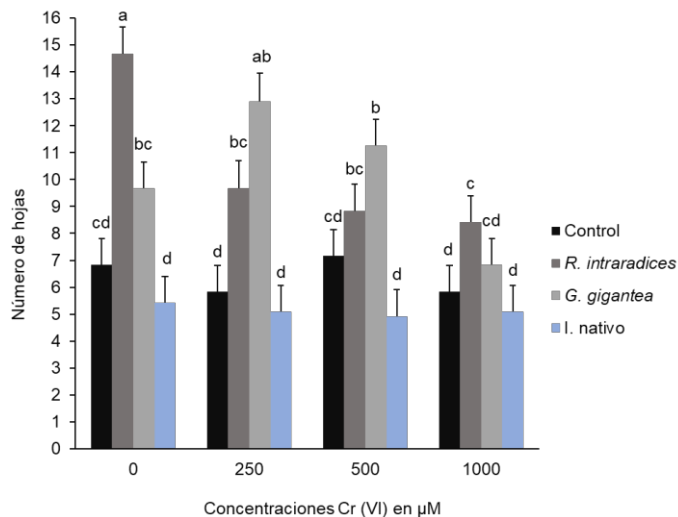


Fig. 2 Numero de hojas en las plantas *T. erecta* inoculadas con *R. intraradices*, *G. gigantea* y un inoculo nativo, expuestas a 250, 500, 1000 µM de Cr (VI).

CONCLUSION

El presente estudio sugiere que la inoculación con HMA puede mejorar la tolerancia de las plantas de *T. erecta* L. a la toxicidad inducida por el Cr (VI), mediante la toma de nutrientes, mejorando el crecimiento de las plantas, además esta simbiosis cambia el sistema radicular lo que implicaría la diferencia en la absorción de Cr (VI) y translocación a los tejidos de las plantas, o bien la inmovilización dentro de las estructuras simbióticas de HMA, mejorando así la acumulación y tolerancia al Cr (VI). Se necesitan más experimentos para estudiar los efectos y mecanismos de HMA en relación a las respuestas ante estrés de Cr, como de los mecanismos que están involucrados en esta absorción.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. M. Zayed y FN. Terry, "Chromium in the environment: factors affecting biological remediation", *Plant and Soil*, Vol. 249, 1, 2003, pp. 139–156.
2. A. Bielicka, I. Bojanowska y A. Wisniewski. "Two Faces of Chromium-Pollutant and Bioelement", *Pol. J. Environ. Stud.*, Vol. 14, 1, 2005, pp. 5–10.
3. B. Boonyapookana, E. S. Upatham, M. Kruatrachue, P. Pokethitiyook y S. Singhakaew. "Phytoaccumulation and phytotoxicity of cadmium and chromium in duckweed *Wolffia globosa*", *Int. J. Phytoremed.*, Vol. 4, 2002, pp. 87–100.
4. C. Cervantes, J. Campos-García, S. Devars, F. Gutiérrez-Corona, H. Loza-Tavera, J. C. Torres-Guzmán, R. Moreno-Sánchez, "Interactions of chromium with microorganisms and plants", *FEMS Microbiol. Rev.* Vol. 25, 3, 2001, pp. 335–347.
5. D. H. Boucher, S. James y K. H. Keeler, "The ecology of mutualism", *Ann. Rev. Ecol. Sys.*, Vol. 13, 1982, pp. 315-347.
6. D. Pulford, C. Watson, y S. D. McGregor, "Uptake of chromium by trees: prospects for phytoremediation," *Environmental Geochemistry and Health*, vol. 23, 3, 2000, pp. 307– 311.
7. E. J. Joner, R. Briones y C. Leyval. "Metal-binding capacity of arbuscular mycorrhizal mycelium", *Plant and Soil*, Vol. 22, 6, 2000, pp. 227–2.

8. G. H. Rabie. "Contribution of arbuscular mycorrhizal fungus to red kidney and wheat plants tolerance grown in heavy metal-polluted soil", *African Journal Biotechnology*. 4, 2005, pp. 332-345.
9. K. Nath, S. Saini, Y. K. Sharma, "Chromium in tannery industry effluent and its effect on plant metabolism and growth", *J. Environ. Biol.*, vol. 26, 2, 2005, pp. 197-204.
10. K. Nath, S. Shyam, D. Singh, Y. K. Shanna, "Effect of chromium and tannery effluent toxicity on metabolism and growth in cowpea (*Vigna sinensis* L. *Saviex Hassk*) seedling", *Res. Environ. Life Sci.*, Vol. 1, 2008, pp. 91-94.
11. L. C. Coelho, A. R. R. Bastos, P. J. Pinho, G. A. Souza, J. G. Carvalho, V. A. T. Coelho, L. C. A. Oliveira, R. R. Domingues, V. Faquin, "Marigold (*Tagetes erecta*): The potential value in the phytoremediation of chromium". *Pedosphere*, Vol. 27, 3, 2017, pp. 559-568.
12. L.Z. Liu, Z.Q. Gong, Y.L. Zhang y P.J. Li, "Growth, cadmium accumulation and physiology of marigold (*Tagetes erecta* L.) as affected by arbuscular mycorrhizal fungi", *Pedosphere*, Vol. 21, 2011, 319-327.
13. J. W. Gerdeman, y T. H. Nicolson, "Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting", *Transactions of the British Mycological Society*, vol. 46, 1963, pp. 235-244.
14. J. M. Phillips y D. S. Hayman, "Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection", *Transactions of the British Mycological Society*, Vol. 55, 1970, PP. 158-161.
15. N. Duan, X. L. Wang, X. D. Liu, C. Lin y J. Hou. "Effect of anaerobic fermentation residues on a chromium-contaminated soil-vegetable system", *Procedia Environmental Sciences*, vol. 2, 2010, pp. 1585-1597.
16. M. C. González-Chávez, R. Carrillo-González y M. C. Gutiérrez-Castorena. "Natural attenuation in a slag heap contaminated with cadmium: the role of plants and arbuscular mycorrhizal fungi". *Journal of Hazardous Materials*, Vol. 16, 1, 2009, pp. 1288-1298.
17. M. G. A. Van der Heijden, J. N. Klironomos, M. Ursic, P. Moutoglis, R. Streitwolf-Engel, T. Boller, A. Wiemken e I. R. Sanders. "Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity", *Nature*, Vol. 396, 1998, pp. 69-72.
18. O. S. Castillo, N. Dasgupta-Schubert, C. J. Alvarado, E. M. Alvarado y H. J. Villegas, "The effect of the symbiosis between *Tagetes erecta* L. (marigold) and *Glomus intraradices* in the uptake of copper (II) and its implications for phytoremediation. *New Biotechnology*, Vol. 29, 2011, pp. 156-164.
19. P. Audet, "Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Metal Phytoremediation: Ecophysiological Complementarity in Relation to Environmental Stress". In P Ahmad, S Rasool (eds.), *Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance Volume II A Sustainable approach*. United State of America: Elsevier-Academic Press, 2014, pp.133-160.
20. T. L. F. Leung y R. Poulin. "Parasitism, commensalism and mutualism: exploring the many shades of symbiosis", *Vie Milieu*. Vol. 58, 2008, pp. 107-115.
21. V. Madhavi, A. V. B. Reddy, K. G. Reddy, G. Madhavi. "An Overview on Research Trends in Remediation of Chromium", *Res. J. Recent. Sci*. Vol. 2, 1, 2013, pp. 71-83.
22. P. Rajendran, J. Muthukrishnan y P. Gunasekaran. "Microbes in heavy metal remediation". *Indian. J. Exp. Biol*. Vol. 41, 2003, pp. 935-944.
23. S. Meier, F. Borie, N. Bolan y P. Cornejo. "Phytoremediation of Metal-Polluted Soils by Arbuscular Mycorrhizal Fungi", *CREST*, Vol. 42, 2012, pp. 744-775.
24. V. Gäuhre y U. Paszkowski. "Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation", *Planta*, Vol. 22, 3, 2006, pp.1115-22.
25. Y. J. Kim, J. H. Kim, C. E. Lee, "Expression of yeast transcriptional activator MSN1 promotes accumulation of chromium and sulfur by enhancing sulfate transporter level in plants," *FEBS Letters*, Vol. 580, 1, 2006, pp. 206-210.

IMPLEMENTACIÓN Y VALIDACIÓN DE UNA METODOLOGÍA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE ALQUILFENOLES Y SUS ETOXILADOS EN CUERO POR CROMATOGRFÍA DE GASES ACOPLADO A ESPECTROMETRÍA DE MASAS.

Rodríguez-García, P; Beltrán-Ramírez, M.F; Vera-Yépez, M. L; Robledo-Zacarías V. H*; Montelongo-Hernández J. I; Zarrabal-Villalobos M. A.

*Autor por correspondencia.

CIATEC, Centro de Innovación Aplicada en Tecnologías Competitivas, Dirección de Servicios Tecnológicos, Laboratorio de Análisis Químicos. Omega 201, Industrial Delta, León, Guanajuato, C.P. 37545. Teléfono +52 (477) 7100011 ext. 14310, vrobledo@ciatec.mx.

INTRODUCCIÓN

Los alquifenoles etoxilados (APEO) como el octilfenol (OPEO₁₀) y nonilfenol (NPEO₉) son compuestos orgánicos con amplia utilidad en la industria del cuero, los cuales fueron sintetizados por primera vez en 1940. Su estructura química (Figura 1) está constituida de una cadena alquílica de 8 a 9 átomos de carbono (la cual puede variar, incluso ser ramificada), un grupo aromático y una cadena polietoxilada de unidad variable que le brinda diversas propiedades con alto poder espumante y emulsificante, estas características hacen a los APEO productos ampliamente utilizados como detergentes, agentes adherentes, dispersantes, emulsificantes, solubilizantes y agentes espumantes.

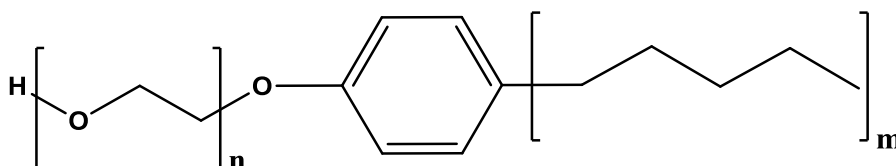


Figura 1. Estructura química de APEO, en donde la “n” denota el número de etoxi oligómeros que forman la cadena etoxilada y la “m” el número de átomos de carbono en la cadena alquílica.

Sin embargo, dichos compuestos presentan propiedades fisicoquímicas que les atribuyen poca o nula solubilidad en agua. Por otro lado, diversas investigaciones han demostrado que los APEO se degradan en algunas sustancias estrogénicas persistentes como el nonilfenol (NP), el octilfenol (OP) así como los alquifenoles mono o di etoxilados, dichos productos de degradación son más tóxicos y persistentes que el compuesto original. Estudios estiman que los alquifenoles pueden llegar a ser hasta 10 veces más tóxicos que los APEO de partida. Con base a lo anterior, dichos compuestos se han clasificado como contaminantes emergentes, ya que generan efectos adversos en el sistema endocrino afectando el crecimiento y desarrollo prenatal de todos los seres vivos. Por esta razón, numerosos países y agencias de protección han llevado a cabo el seguimiento del riesgo medioambiental de los APEO y AP, destacando el realizado por parte de Environment Canada, en donde se establece que la relación de la concentración permisible en el medio y la concentración máxima esperada que no produce efectos adversos debe estar por debajo de 1,0 µg/L, indicando que el uso del nonilfenol supone un riesgo medioambiental importante. En el año 2003 la directiva europea 2003/53/EC reguló la venta y uso de nonilfenol (NP), octilfenol (OP) y sus etoxilados mediante la evaluación, autorización y restricción de sustancias y preparados químicos (REACH). Por otra parte, en 2004 la directiva europea actualizó y unificó todas sus normas establecidas en materia de detergentes en el reglamento (CE) No. 648/2004.

Debido a la actual problemática medio ambiental y de salud, es necesaria la implementación de métodos analíticos para monitorear los AP y APEO en cuero. Debido a que los APEO se encuentran en niveles traza, las técnicas analíticas utilizadas actualmente se basan en cromatografía líquida de alta resolución acoplada a un detector de fluorescencia, Cromatografía de gases-Espectrometría de masas (GC-MS) o bien el uso de la cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS). Si bien estos métodos analíticos son confiables, las limitantes tales como el costo de operación y los tiempos de corrida largos, restringen enormemente sus aplicaciones, esto sin tomar

en cuenta que en México la principal limitante son los escasos laboratorios con metodologías implementadas y validadas para la determinación de dichos compuestos en niveles de concentración relativamente bajos de hasta 0,1 µg/mL. Por tal motivo, el objetivo del presente trabajo es la implementación y validación de un método analítico para cuantificar alquilfenoles (AP) y sus etoxilados (APEO) en muestras de cuero, empleando la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS).

EXPERIMENTAL

Reactivos

Los estándares utilizados para la curva de calibración, fortificación de controles y muestras adicionadas fueron marca Absolute Standards, los disolventes, tales como acetona, hexano y acetonitrilo fueron proporcionados por Fisher Scientific, todos de grado HPLC. Los reactivos utilizados fueron grado analítico de diferentes marcas, sulfato de sodio anhidro (Fermont, pureza 99,30%), sulfato de magnesio (J. T. Baker, pureza 99,4%), triyoduro de aluminio (Alfa Aesar, pureza 95%), tiosulfato de sodio (MACRON Chemicals, pureza 98%) y cloruro de sodio (Karal, 99%). Finalmente, el agua ultra pura (tipo II) se obtuvo de un sistema de purificación marca Sartorius AG Germany, modelo Arium 611UV.

Instrumentos y materiales

Los equipos auxiliares para el procesamiento de muestras y controles consistieron en una balanza analítica marca Sartorius, modelo MSE224S-100-DU con una resolución de 0,1 mg a 220 g, un baño ultrasónico marca BRANSON, modelo 8800, un sistema de reflujo Soxtherm marca Gerhardt y un evaporador rotatorio marca Heidolph. Por otro lado, la cuantificación se realiza en un cromatógrafo de gases marca Agilent Technologies Modelo 7890B y un espectrómetro de masas de la misma marca, modelo 5977 A.

Métodos.

El procesamiento de las muestras consistió en extraer los compuestos del cuero empleando acetonitrilo en baño ultrasónico a una potencia de 40 kHz a 50°C durante 1 hora, adicionando Na₂SO₄ para eliminar la humedad, posteriormente se realiza la extracción líquido-líquido con Hexano-Agua, se trasfiere la fase orgánica a matraz bola y se reduce el volumen con un sistema de evaporación rotatorio a una presión de 280-300 mbar a temperatura de 40-42°C, el extracto obtenido se analiza por GC-MS para la cuantificación de NP y OP, empleando 4n-nonilfenol como estándar interno.

El contenido de OPEO₁₀ y NPEO₉ en el extracto, se convierte en NP y OP, empleando triyoduro de aluminio como agente de ruptura del enlace etoxilo, esta reacción se lleva a cabo a reflujo en un sistema de extracción Soxtherm, bajo las condiciones enlistadas en la Tabla 1, posteriormente se realiza una extracción líquido-líquido hexano-agua en medio ácido, finalmente se adicionan 2 mL de una solución saturada de tiosulfato de sodio, se separa la fase orgánica y se reduce el volumen en evaporador rotatorio. La cuantificación de OPEO₁₀ y NPEO₉ se calculó con base a la respuesta de NP y OP liberados, mismos que son cuantificados por GC-MS, utilizando las condiciones cromatográficas y de adquisición en el espectrómetro de masas que se detallan en la Tabla 2. La identificación y confirmación de los OPEO₁₀ y NPEO₉ se realiza mediante el comparativo de su espectro de masas (*m/z*) con respecto a estándares de referencia, finalmente la cuantificación se realiza con la adquisición de iones selectivos correspondientes a cada compuesto los cuales se detallan en la Tabla 3, empleando el método de estandarización interna.

Tabla 1. Condiciones de sistema de reflujo Soxtherm.

Parámetro	Magnitud
Temperatura de extracción	90°C ± 2 °C
Intervalo de reducción	0 min 18 s
Pulso de reducción	2 s
Tiempo de extracción	35 min
Temperatura de Chiller	2,5 a 5 °C

Tabla 2. Condiciones instrumentales.

Modo de inyección	Splitless pulsado
Temperatura del inyector	250 °C
Volumen de inyección	1 µL
Temperatura de la línea de Transferencia	280 °C
Gas portador	Helio
Velocidad de flujo	0,9 mL/min
Programa de temperatura	80°C por 1 min; 20°C/min hasta 180°C sostenido por 2 min; 5°C/min a 195°C sostenido por 1 min; 20°C/min a 280°C sostenido por 10 min.
Columna cromatográfica	Columna capilar 5 % fenil 95 % metilpolisiloxano. Agilent HP-5MS. Longitud 30 m; diámetro interno: 0,25 mm; espesor de fase estacionaria: 0,25 µm
Espectrómetro de masas	Simple cuadrupolo y modo de ionización por impacto electrónico (IE-Positivo)
Modo de adquisición de datos	SIM/SCAN
Rango de masas	40-300 amu
Temperatura de la Fuente Espectrómetro de masas	230°C
Temperatura del cuadrupolo	150°C
Solvent Delay	5 min
Tiempo de corrida	26,5 min

Tabla 3. Iones seleccionados para la identificación y cuantificación en modo de adquisición de monitoreo de ion selectivo (SIM) para la determinación de AP y APEO.

Analito	Abreviatura	Número de CAS	Iones
4-Nonilfenol (mezcla de isómeros)	NP	84852-15-3	107,121,135,149
4-tert-octilfenol	OP	140-66-9	135,206
Nonilfenol etoxilado	NPEO ₉	9016-45-9	107,121,135,149
Octilfenol etoxilado	OPEO ₁₀	9002-93-1	135,206
4n-nonilfenol (estándar interno)	4n-NP	104-40-5	107,220

Validación de la metodología

Previo a la medición de muestras reales de cuero, se llevó a cabo la validación de la metodología analítica con el fin de garantizar el desempeño y confiabilidad de los resultados, dicha validación se realizó mediante el tratamiento y análisis de réplicas de muestras de cuero sintético fortificadas con concentración conocida de los analitos de interés. Los parámetros evaluados fueron los siguientes: límite de detección, límite de cuantificación, límite práctico de cuantificación, intervalo lineal, intervalo de trabajo, precisión y exactitud.

Por otro lado, se realizaron análisis de muestras problema utilizando un sistema de control de calidad mediante la implementación de muestras control (a concentración de 1 µg/mL para AP y 2 µg/mL APEO) las cuales son utilizadas para evaluar el porcentaje de recobro, muestras control adicionadas para evaluar efectos de matriz, muestras duplicadas para determinar la reproducibilidad y muestras control blanco con la finalidad de confirmar la selectividad del método.

RESULTADOS

De la validación del método se obtuvieron los resultados mostrados en la Tabla 3, en donde el intervalo lineal fue de 0,1-20,0 ug/mL para AP y 2,0-50,0 ug/mL para APEO, con respecto a los intervalos de trabajo, los resultados fueron de 1,0-40,0 mg/kg para AP y 4,0-100,0 mg/kg para APEO. En cuanto a las curvas de calibración empleadas, se obtuvieron coeficientes de correlación superiores a 0,99 para todos los analitos. Respecto a la precisión del método, ésta se evaluó en condiciones de repetibilidad, con una precisión intermedia menor del 10 % de coeficiente de variación (% CV), mientras que la veracidad fue evaluada como sesgo. Finalmente, se evaluaron los porcentajes de recuperación en muestra de cuero sintético fortificado con AP (NP y OP) a concentración de 1 mg/kg y 20 mg/kg; con APEO (NPEO₉ y OPEO₁₀) a 4 mg/kg y 50 mg/kg; obteniendo porcentajes de recuperación de entre el 85-97%, cumpliendo con los criterios de aceptación de 70 – 130 % para métodos cromatográficos.

Tabla 3. Resultados obtenidos.

Método Matriz	Análisis de AP y APEO Cuero			
	Compuesto			
Parámetros de validación	OP	NP	OPEO ₁₀	NPEO ₉
Límite de detección (LDM) mg/kg	0,07	0,06	0,53	0,12
Límite de cuantificación (LCM) mg/kg	0,36	0,32	2,67	0,59
Límite práctico de cuantificación (LPC) mg/kg	1,00	1,03	3,98	3,99
Intervalo lineal (mg/L)	0,1 a 20,0	0,1 a 20,0	2,0 a 50,0	2,0 a 50,0
Coeficiente de correlación (r) de la curva de calibración	>0,99	>0,99	>0,99	>0,99
Intervalo de trabajo nivel medio (mg/kg)	1,0 a 40,0	1,03 a 40,0	3,98 a 100,0	4,0 a 100,0
	Precisión*			
Repetibilidad (r) %RSD	1,92	0,48	1,80	0,77
	Exactitud			
Sesgo (mg/kg)	3,01	0,49	1,01	2,35
% Recuperación	85,01	97,63	97,97	95,29

*La precisión intermedia se evaluó para el nivel de concentración media del intervalo de trabajo.

CONCLUSIONES

Finalmente, se logró la implementación y validación de un método analítico reproducible, preciso, exacto y sobre todo confiable para la cuantificación de AP y APEO en muestras de cuero, permitiendo monitorear la presencia de éstos contaminantes en productos de consumo y materias primas, impulsando y fortaleciendo el desarrollo económico de la industria del cuero, así como los procesos de calidad de sus productos y servicios.

REFERENCIAS.

1. Latorre, S. L. (2005). Determination of nonylphenol and octylphenol in paper by microwave-assisted extraction coupled to headspace solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 251-256.
2. Chin-Yuan Cheng, W.-H. D. (2002). Determination of nonylphenol polyethoxylates in household. *Journal of Chromatography A*, 143–150.
3. ISO/DIS 18218-2 Leather — Determination of ethoxylated alkylphenols — Part 2: Indirect method (2015).
4. ISO/DIS 18218-1 Leather — Determination of ethoxylated alkylphenols — Part 1: Direct method (2015).

5. Reglamento (CE) No 648/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 31 de marzo de 2004 sobre detergentes. Diario Oficial de la Unión Europea.
6. Directiva 2003/53/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 18 de junio de 2003. Diario Oficial de la Unión Europea.
7. H.-W. Ma, L. Zhang, X.-X Huang. Determination of ethoxylated nonylphenol and octylphenol in leather by cleavage treatment combined with GC-MS. The 8th Asian International Conference on Leather Science & Technology, 12-14, November, 2010, Kolkata, India.
8. H.-W. Ma, Y. Cheng. Determination of free and ethoxylated alkylphenols in leather with gas chromatography - mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217 (2010): 7914-7921.
9. H.-W. Ma, L. Zhang. Determination of alkylphenols originated from alkylphenol ethoxylates by cleavage treatment combined with GC-MS. *Analytical Letters*, 2011, 44: 2423-2437.
10. W. Ma, X.-X Huang. APEOs in leather processing – A survey. Proceedings of 31st IULTCS Congress, September 2011, Valencia, Spai

LIMPIANDO DESECHOS CON ¿DESECHOS?, SÍNTESIS DE MATERIALES ADSORBENTES A PARTIR DE RESIDUOS DE LA CURTIDURÍA

B. S. Barajas Elías¹, J.R. Rangel-Mendez², F. Caballero-Briones³ y J. A. Arcibar-Orozco^{1*}

¹ CIATEC omega 201, Industrial Delta, 37545. León, Gto.

² IPICYT, San Luis Potosí, SLP.

³ CICATA, Altamira Tamps.

*jarcibar@ciatec.mx, tel. 477 710 00 11 Ext. 13019.

RESUMEN

El presente trabajo propone la transformación de residuos de la curtiduría en materiales carbonáceos para la remoción de un colorante utilizado en la curtiduría de solución acuosa. Con el objetivo de prevenir la oxidación del cromo trivalente atrapado entre las fibras del residuo, se empleó un proceso de activación química con $ZnCl_2$ a bajas temperaturas. Se obtuvieron materiales con bajas áreas superficiales (máximo 304 m^2/g), las cuales aumentaron con el incremento en la temperatura de carbonización; se obtuvo un contenido de cromo menor al 1.5 % en todos los casos. La caracterización demostró fases de cromo en óxidos de cromo 2, 3 y 4, ninguno hexavalente. Mediante estudios de XRD y FT IR se confirmó la presencia de nanopartículas de óxidos de cromo, los cuales les otorgaron ciertas capacidades por la remoción del colorante. La máxima capacidad de adsorción del negro ácido 210 fue de 44 mg/L. El presente trabajo evalúa una forma novedosa de aprovechamiento de residuos peligrosos y representa un avance en el entendimiento de las interacciones de los colorantes con los materiales carbonáceos modificados con nanopartículas. Palabras clave: curtiduría, carbón, adsorción, colorante.

INTRODUCCIÓN

En sus diversos procesos, la industria de la curtiduría produce elevadas cantidades de residuos líquidos y sólidos, los cuales por sus características ocasionan graves impactos ambientales a los sistemas acuáticos, atmosféricos y terrestres [1,2]. El uso de sales de cromo trivalente es una tecnología tradicional aún en uso, pero potencialmente peligrosa [3]. Residuos conteniendo cromo (III) expuestos a condiciones ambientales no controladas y medios acuosos pueden ser oxidados a su forma hexavalente, el cuál es un contaminante peligroso y cancerígeno [4,5]. El mayor residuo sólido producido proviene de la reducción de espesor de la piel, donde se producen una gran cantidad de virutas de cuero residuales mejor conocidas como "raspa", las cuales no tienen uso y valor. Anualmente se producen alrededor de 2.6 millones de toneladas de estos desechos [1,6,7,8,9]. Se ha demostrado que estos residuos tienen el potencial para ser transformados en materiales adsorbentes como lo es el carbón activado (CA) [5,10,11]. Las condiciones de síntesis del mismo, son determinantes para modular la obtención de CA de propiedades importantes y prevenir que durante la pirólisis se forme cromo hexavalente. Por lo tanto, utilizar temperaturas bajas de producción. CA es un término que incluye una gran cantidad de materiales amorfos carbonosos con un alto grado de porosidad y una elevada área específica. Es un adsorbente único y versátil ya que es usado en una gran cantidad de aplicaciones. Se puede utilizar para remover el olor, color, sabor y otras impurezas orgánicas e inorgánicas como los colorantes [12,13]. La industria textil emplea el 56% de los colorantes sintéticos que se producen al año alrededor del mundo (7×10^5 toneladas) entre otras grandes cantidades de químicos [14]. Entre los colorantes más utilizados por las diferentes industrias son del tipo azo (N=N), la mayoría de ellos son recalcitrantes por su naturaleza sintética y sus estructuras aromáticas, lo cual los hace resistentes a la degradación por métodos convencionales [15,16].

En base a lo anterior, el objetivo del presente estudio fue transformar los residuos de la curtiduría en CA y posteriormente emplearlo para la adsorción de contaminantes producidos por las instancias generadoras de esta contaminación. Para lo anterior utilizó un método de producción químico de carbón activado a bajas temperaturas. El objetivo es obtener partículas de Cr_2O_3 , las cuales pueden incrementar la densidad de grupos de adsorción por la introducción de grupos oxigenados localizados.

El presente estudio busca dar alternativas para el manejo adecuado de residuos y tratamiento de aguas residuales.

METODOLOGÍA

La "raspa" se impregnó a las relaciones másicas de 0.5, 1, y 1.5 ZnCl₂/raspa y se secó. Después se carbonizó en un horno carbolite HTR 11/150 entre los 400 y 600 °C durante 1, 1.5 y 2 h bajo atmósfera inerte. Los materiales se lavaron con agua desionizada (prefijo b, Tabla 1) y posteriormente con HCl 1% (prefijo c). Se caracterizaron por XRD, FTIR, fisiorción de nitrógeno, contenido de cromo, contenido de cenizas, titulación potenciométrica y microscopia electrónica. Se obtuvo la capacidad de adsorción en azul de metileno (25 °C, pH 7) y negro ácido 210 (un colorante modelo utilizado en la curtiduría) a diferentes temperaturas (15, 25 y 35 °C) y pH 6, 7 y 8. La concentración del colorante se determinó por espectroscopia de absorción UV-Vis.

DISCUSIÓN

La caracterización del carbón activado demostró que se depositaban nanopartículas de óxidos de cromo (III) y (IV) en la superficie del material. Este resultado no solo demuestra que es posible evitar la oxidación de cromo a hexavalente también que existen dos mecanismos de formación de partículas en la superficie del material: oxidación parcial y formación directa de Cr₂O₃. La superficie porosa alcanzó un máximo de área superficial de 303 m²/g. Los materiales presentaron capacidades variadas de remoción de negro ácido de solución acuosa. La mayor capacidad de adsorción se observó en el material con el mayor contenido de cromo en % de peso, sugiriendo el efecto positivo de la presencia de cromo para la remoción del colorante. Los infrarrojos demostraron las vibraciones entre átomos de diferentes grupos oxigenados. Aproximadamente a 599 cm⁻¹ se observó una banda atribuida a la vibración de O-Cr-O [17-18].

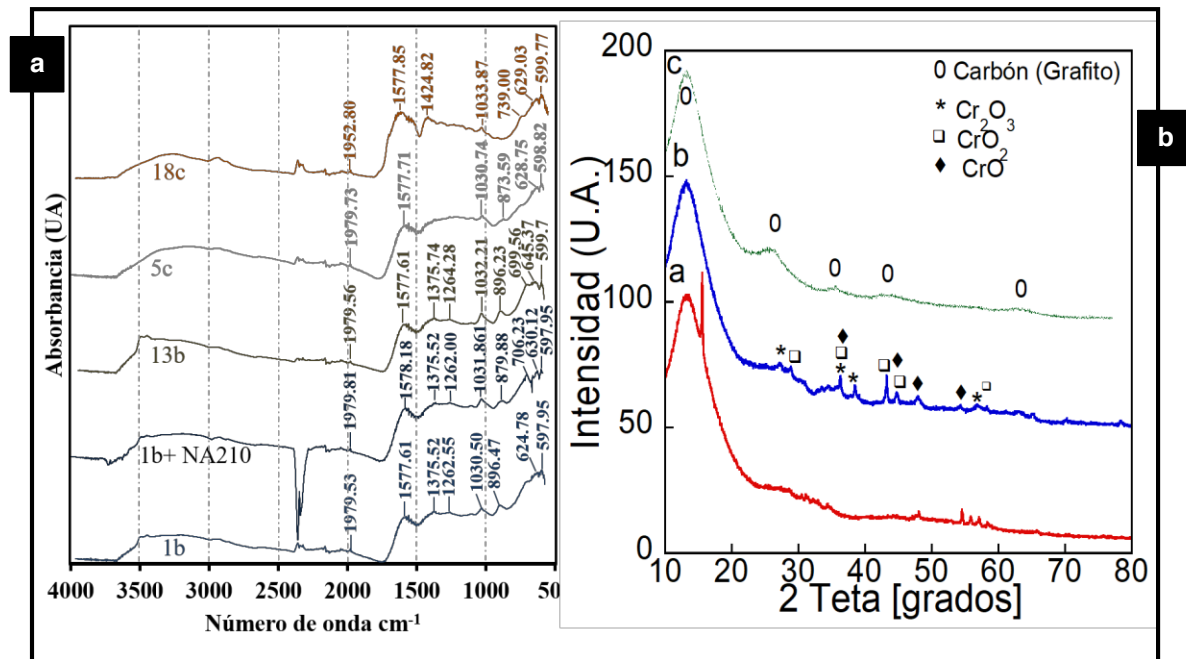


Figura 1. (a) Espectro FT-IR obtenidos para las muestras 1b, 1b+NA 210, 13b, 5c y 18c; (b) XRD de las muestras 1b, 13b, 5c y 18c.

Tabla 1. pH_{PCC} obtenidos por titulación potenciométrica para los materiales seleccionados.

Material	1B	1C	4B	4C	5B	5C	10B	10C	13B	13C
PZC	>10	4.8	>11	4.1	8.2	5.1	8.8	6	8.9	<4

Por titulación potenciométrica se determinó que los materiales “b” tienen la tendencia de adsorber compuestos cargados negativamente a pH's ácidos y en menor medida a pH's alcalinos; A su vez, se sabe que pueden adsorber compuestos cargados positivamente en menor medida por encima de sus respectivos puntos de carga cero (pH_{PCC}) (Tabla 1).

Los materiales “c” presentan una mayor afinidad sobre compuestos cargados positivamente por encima de sus pH_{PCC} correspondientes. Los materiales presentan diferentes grupos de pK_a , los cuales podrían estar dados por sales de zinc, óxido de cromo y los grupos mismos del carbón activado. La distribución de pK_a de los materiales indicó que los carbones activados tienen grupos de pK_a bajo (3-5) y de pK_a alto (8-10) [19].

Los materiales 1b y 13b presentaron mayor capacidad de adsorción (Figura 2a). Se seleccionó el material 1b para llevar a cabo las isothermas de adsorción en el colorante negro ácido 210 a diferentes pH's y temperaturas (Figura 2 b y c). Para conocer el comportamiento de los materiales “c” en el colorante negro ácido 210, el material 5c se seleccionó debido a que fue el segundo con mayor capacidad de adsorción. Las máximas capacidades de adsorción a pH 6, 7 y 8 fueron de 54.7, 44.4 y 61.7 mg/g respectivamente (Figura 2b); mientras que a 15, 25 y 35 °C se obtuvieron máximas capacidades de adsorción de 49.6, 44.4 y 44.5 mg/g respectivamente. En lo que concierne al material 5c, su máxima capacidad fue de 46.7 mg/g (Figura 2d). Estos resultados denotan que para el factor de temperatura se considera con un efecto despreciable sobre la capacidad de adsorción del colorante. Las isothermas de pH mostraron que la menor capacidad de adsorción es a pH 7. Un incremento de adsorción considerable se hace notar (≈ 17 mg/g) al subir el pH de 7 a 8 y al bajarlo (pH 6) uno de 10 mg/g. En cuanto al material 5c, se determinó que no presenta diferencias significativas en su capacidad de adsorción con respecto al material 1b.

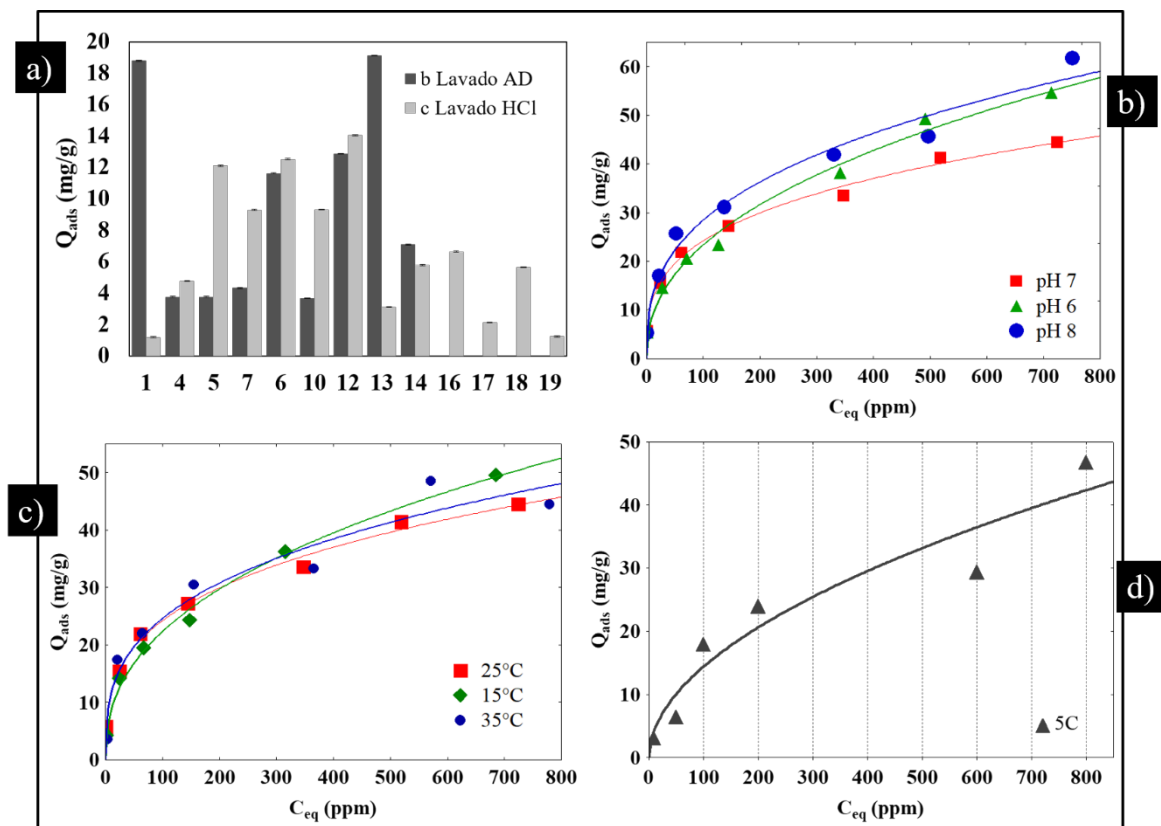


Figura 2. Resultados obtenidos de (a) Capacidad de adsorción para el NA 210 a una concentración inicial de 100 ppm, (b) Isotermas de adsorción (material 1b) sobre el colorante NA 210 a pH 6, 7 y 8; (c) Isotermas de adsorción (material 1b) sobre el colorante NA 210 a T de 15, 25 y 35 °C; (d) Isotherma de adsorción (material 5c) sobre el colorante NA 210 a T de 25 °C y pH 7.

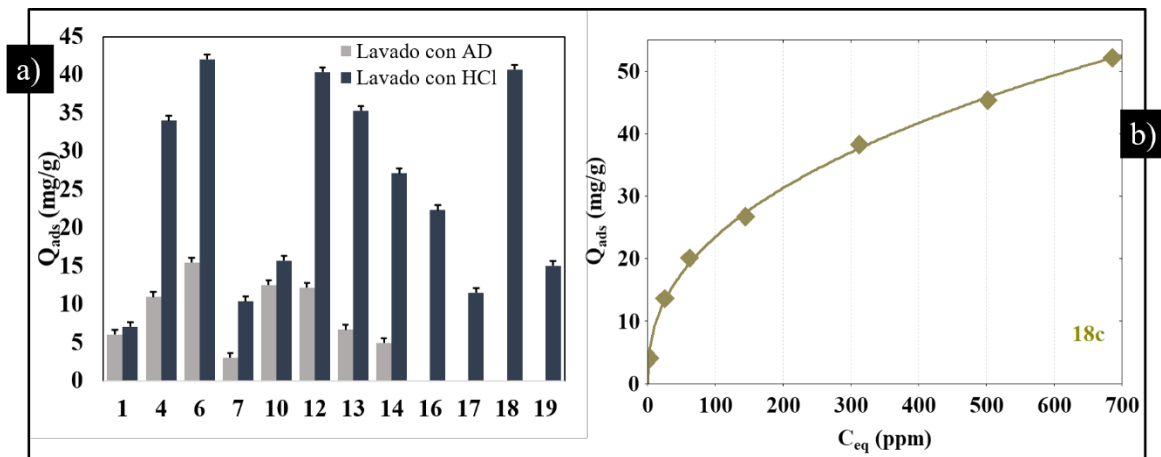


Figura 3. Resultados obtenidos de (a) Capacidad de adsorción para AM a una concentración inicial de 100 ppm, (b) Isotermas de adsorción (material 18c) sobre el colorante AM a pH 7 y 25 °C.

A partir de los estudios con azul de metileno se determinó que los materiales “c” presentan mayor capacidad de adsorción en comparativa con los “b” (Figura 3a). Los materiales 6, 12 y 18c fueron los que mostraron mayor capacidad de adsorción (≈ 40 mg/g). El material 18c fue sometido a una

isoterma de pH 7 y 25 °C, la máxima capacidad de adsorción fue de 52.1 mg/g (Figura 3b). De acuerdo con los resultados de pH_{PCC} , se sabe que los materiales "c" presentan un pH_{PCC} menor a 5. Por lo tanto, el pH utilizado durante la isoterma cargó la superficie del carbón activado negativamente y al contacto con el azul de metileno (carga positiva) se ejercieron las fuerzas electrostáticas.

En base, a las isotermas obtenidas podemos observar diferencia relevante entre los materiales para la capacidad de adsorción entre azul de metileno y negro ácido 210 a pH 7.

El mecanismo de adsorción que se sugiere en esta investigación es por fisiorción entre el adsorbente-adsorbato donde indudablemente participan las fuerzas de van der-Waals. Además, podrían llevarse a cabo otro tipo de fuerzas electrostáticas tales como las interacciones π - π entre los anillos aromáticos de colorante y el carbón activado.

CONCLUSIÓN

Se obtuvo un material con nanopartículas de cromo en su superficie, las cuales les dan cierta reactividad química para la atracción de un colorante de solución acuosa. Ninguna de las especies de cromo detectadas correspondió a cromo hexavalente lo cual demuestra la eficacia del proceso diseñado.

REFERENCIAS

1. H. Ozgunay, S. Colak, M.M. Mutlu, F. Akyuz, Characterization of leather industry wastes, *Polish J. Environ. Stud.* 16 (2007) 867–873.
2. M.A. Aboulhassan, S. Souabi, A. Yaacoubi, Pollution reduction and biodegradability index improvement of tannery effluents, *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 5 (2008) 11–16. <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-38849142516&partnerID=tZOtx3y1>.
3. M. Mwinyihija, Ecotoxicological diagnosis in the tanning industry, 2010. doi:10.1007/978-1-4419-6266-9.
4. J.C. Beltran-Prieto, R. Veloz-Rodriguez, M.C. Perez-Perez, J.L. Navarrete-Bolanos, E. Vazquez-Nava, H. Jimenez-Islas, J.E. Botello-Alvarez, Chromium recovery from solid leather waste by chemical treatment and optimisation by response surface methodology, *Chem. Ecol.* 28 (2012) 89–102. doi:10.1080/02757540.2011.628016.
5. L.C.A. Oliveira, M.C. Guerreiro, M. Gonçalves, D.Q.L. Oliveira, L.C.M. Costa, Preparation of activated carbon from leather waste: A new material containing small particle of chromium oxide, *Mater. Lett.* 62 (2008) 3710–3712. doi:10.1016/j.matlet.2008.04.064.
6. J.R. Rao, P. Thanikaivelan, K.J. Sreeram, B.U. Nair, Green route for the utilization of chrome shavings (chromium-containing solid waste) in tanning industry, *Environ. Sci. Technol.* 36 (2002) 1372–1376. doi:10.1021/es015635s.
7. M. Erdem, Chromium recovery from chrome shaving generated in tanning process, *J. Hazard. Mater.* 129 (2006) 143–146. doi:10.1016/j.jhazmat.2005.08.021.
8. FAO, Statistics, (2013). <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QL/S> (accessed September 11, 2016).
9. F.J. Berry, N. Costantini, L.E. Smart, Synthesis of chromium-containing pigments from chromium recovered from leather waste, *Waste Manag.* 22 (2002) 761–772. doi:10.1016/S0956-053X(01)00046-0.
10. I.C. Kantarli, J. Yanik, Activated carbon from leather shaving wastes and its application in removal of toxic materials, *J. Hazard. Mater.* 179 (2010) 348–356. doi:10.1016/j.jhazmat.2010.03.012.
11. O. Yilmaz, I.C. Kantarli, M. Yuksel, M. Saglam, J. Yanik, Conversion of leather wastes to useful products, *Resour. Conserv. Recycl.* 49 (2007) 436–448. doi:10.1016/j.resconrec.2006.05.006.
12. R.C. Bansal, M. Goyal, *Activated Carbon Adsorption*, Taylor & Francis Group, Boca Ratón, 2005.
13. J.C. Crittenden, *Water Treatment: Principles and Design.*, Second Edi, JohnWiley&Sons, New Jersey, 2005.
14. E. Rodríguez, M. Pickard, R. Vázquez, Industrial Dye Decolorization by Laccases from Lignolytic Fungi, *Curr. Microbiol.* 38 (1999) 27–32.

15. R.J. Chudgar, J. Oakes, Dyes, Azo, Kirk Orthmer Encicl. of Chemical Technol. (2003) 1–81.
16. G.C. Kumar, P. Mongolla, Microbial Degradation of Basic Dyes in Wastewaters, in: Microb. Degrad. Basic Dye. Wastewaters, Springer International Publishing, 2015: p. 86. doi:10.1007/978-3-319-10942-8_4.
17. D.A. Brown, D. Cuhningham, The infrared and Raman spectra of chromium (III) oxide, Spectrochimica. 24 (1968) 965–968.
18. National Institute of Standards and Technology, Chromium oxide, (2017).
19. T.J. Bandosz, C.O. Ania, Activated Carbon Surfaces in Environmental Remediation, ELSEVIER Ltd., New York, 2006.

EFFECTO DEL USO DE UN TENSOACTIVO ANIÓNICO SOBRE LA TENSIÓN SUPERFICIAL DEL AGUA, PARA APLICACIÓN EN EL PROCESO DE RECUPERACIÓN MEJORADA DE PETROLEO

Celene Juárez Ignacio¹, Ezequiel Villagarcía Chávez¹, Oscar Guadalupe Rojas Valencia², Esther Torres Santillán²

¹IPN SEPI-ESIQIE, UPALM, Zacatenco, CP. 07738, CDMX, México, ²IPN DIQI-ESIQIE, UPALM, Zacatenco, CP. 07738, CDMX, México.
eze.villagarcia@gmail.com

RESUMEN

Este trabajo se centra en el análisis del efecto que tiene el uso del tensoactivo aniónico dodecilbenzeno sulfonato de sodio (LABS o LAS - linear alkyl benzene sulfonate) sobre la tensión superficial de agua destilada y una solución salina para una posible aplicación en el proceso de recuperación mejorada de petróleo (EOR), tomando como punto de referencia el valor de la concentración micelar crítica (CMC). La CMC está definida como la concentración de tensoactivos en solución libre en equilibrio con tensoactivos en forma agregada. El dodecilbenzeno sulfonato de sodio es comúnmente utilizado como base de diversos productos de limpieza debido a que es completamente biodegradable en condiciones aerobias y anaerobias y por sus propiedades químicas como tensoactivo.

Se determinó la CMC para el dodecilbenzeno sulfonato de sodio en agua destilada y en solución salina (agua de mar sintética, salinidad de 35 g/L) por medio de una curva de tensión (din/cm) vs concentración (g/L), utilizando un tensiómetro de Du-Noüy marca CENCO, el cual fue calibrado por medio de un modelo explícito en tensión superficial.

Por medio del modelo de calibración y utilizando una expansión en serie Taylor para la varianza, se determinó la incertidumbre sobre tensión, tal como lo marca la guía para la expresión de la incertidumbre GUM.

Como resultado de este trabajo, se observó que el efecto del surfactante dodecilbenzeno sulfonato de sodio en la disminución de la tensión superficial se vio fuertemente favorecido por el medio salino requiriéndose una menor concentración de tensoactivo para alcanzar la concentración micelar crítica.

Palabras clave: dodecilbenzeno sulfonato de sodio, tensoactivo aniónico, concentración micelar crítica, tensión superficial.

INTRODUCCIÓN

Después de 80 años de explotación petrolera nacional, los retos presentes en la industria nacional siguen siendo importantes. Debido a esto, actualmente se deben potenciar la eficacia en el proceso de extracción, debido a incrementos en los costos de operación y la disminución en los factores de recobro de los yacimientos y por lo tanto se deben implementar métodos de recuperación mejorada que potencien el porcentaje de extracción. Los procesos de recuperación mejorada de petróleo son en la actualidad la clave para incrementar los factores de recobro. Sobre este particular, existen dos fundamentos físicos importantes a considerar la eficiencia volumétrica de desplazamiento y la eficiencia microscópica de desplazamiento.

La recuperación mejorada de petróleo está definida como el conjunto de métodos que emplean fuentes externas de energía y/o materiales para recuperar el aceite que no puede ser obtenido por medios convencionales como la recuperación primaria y secundaria [1]. De manera general se clasifican en: métodos térmicos, métodos químicos, métodos de inyección miscible de gases y otros dentro de los que se encuentran procesos como los microbianos y eléctricos.

El proceso de explotación de un yacimiento inicia con los procesos de recuperación primaria, utilizando mecanismos naturales de producción como: expansión del sistema roca-fluidos, gas en solución, empuje acuífero, drene gravitacional o mediante sistemas artificiales de producción, posteriormente, cuando el porcentaje de extracción disminuye, se procede con los métodos de recuperación secundaria, los cuales consisten en aumentar o mantener la energía natural del yacimiento, al inyectar agua y/o gas bajo condiciones inmiscibles para mantenimiento de presión y finalmente con la recuperación terciaria.

El método en el que se centra este trabajo es en el proceso de recuperación secundaria. Estos métodos son clasificados como no térmicos y abarcan los procesos de invasión química como: la invasión con polímeros, sustancias alcalinas, sustancias micelares, inyecciones de espumas e invasión con surfactantes.

El objetivo principal de la invasión con surfactantes, es recuperar el petróleo residual del 20 al 40% del volumen poroso, que permanece después de la recuperación primaria o de una inyección de agua, mediante la disminución de la tensión superficial entre el aceite y el agua, la disminución de la mojabilidad del aceite en la roca y así promover la movilización del aceite para facilitar su extracción [2]. Habitualmente, para asegurarse de que la movilidad del aceite esté bien controlada, el surfactante se empuja dentro del yacimiento con algunos aditivos para proteger al surfactante de la formación de precipitados o del secuestro de los cationes bivalentes. Los aditivos más populares son amonio, carbonato de sodio y trifosfato de sodio.

TEORÍA

Los surfactantes son compuestos parecidos a los jabones que tienen la capacidad de estabilizar una mezcla y disminuir la tensión interfacial entre las moléculas con las que entran en contacto. Su utilidad no solo está enfocada a la disminución de la tensión interfacial, también permiten modificar la mojabilidad, sirven como inhibidores de corrosión y ayudan a la dispersión de asfaltenos. Los surfactantes están compuestos por un grupo o "cabeza" hidrofílica y una cola lipofílica por lo que comúnmente se les denominan como moléculas anfifílicas. En sistemas acuosos, el grupo hidrófobo es generalmente un grupo hidrocarburo de cadena larga y la cabeza o grupo hidrofílico suele ser un grupo iónico o altamente polar. Cuando los surfactantes entran en contacto con el agua, las moléculas del surfactante se orientan de tal modo que la parte hidrofóbica sobresale del nivel del agua, mientras que la parte hidrofílica se queda sumergida [1].

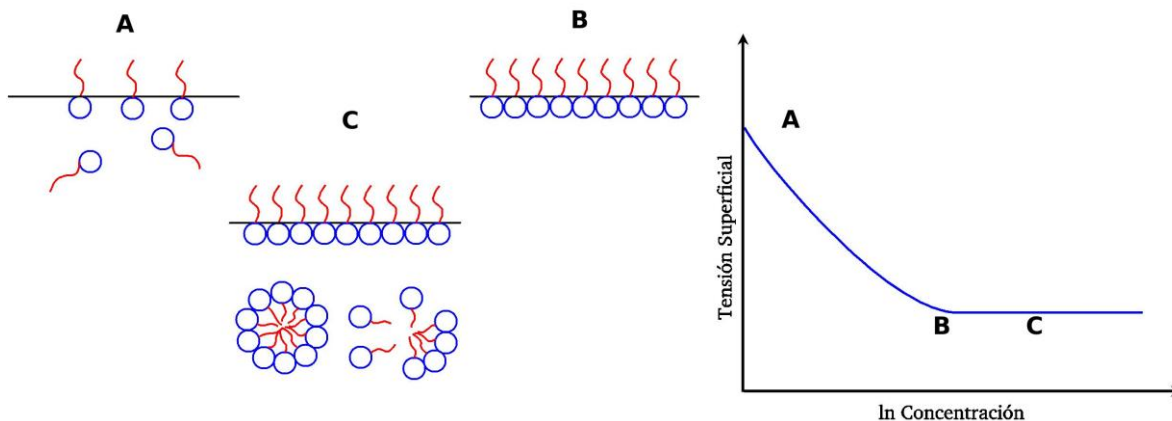


Figura 1. Descripción de la interacción del surfactante con un fluido polar (H₂O). **A)** El surfactante se orienta en la superficie del líquido con el grupo hidrofílico hacia el fluido polar y la cola hidrofóbica sobresale, **B)** El tensoactivo cumple por completo la superficie del líquido y **C)** El surfactante ya no cabe en la superficie y comienzan a aparecer micelas en el seno del fluido.

Cuando se añade un surfactante en agua, la tensión superficial disminuye debido a que las moléculas de surfactante se adsorben en la superficie y al agregar mayor cantidad de surfactante las moléculas quedan totalmente empaquetadas en la superficie, de forma totalmente vertical, con la parte hidrofílica orientada hacia el agua y la parte lipofílica hacia el aire. Si se añade suficiente surfactante se provoca que las moléculas ya no quepan en la superficie y se generen estructuras denominadas micelas, en el seno del fluido, por lo que la tensión superficial no disminuye más y permanece constante.

Con la reducción de la tensión superficial también se disminuye la interfacial y se favorece la absorción en una interfaz agua-aceite generando un aumento de la solubilidad [2]. Al punto donde la

tensión superficial/interfacial disminuye a un punto mínimo con la menor cantidad de tensoactivo, se le denomina concentración micelar crítica (Figura.1 B).

El tensoactivo utilizado en este trabajo fue el dodecibenceno sulfonato de sodio debido a que compuesto completamente biodegradable tanto aerobia como anaerobia mente y es posible degradarlo más del 99% durante el tratamiento de aguas residuales convencionales [3-5].

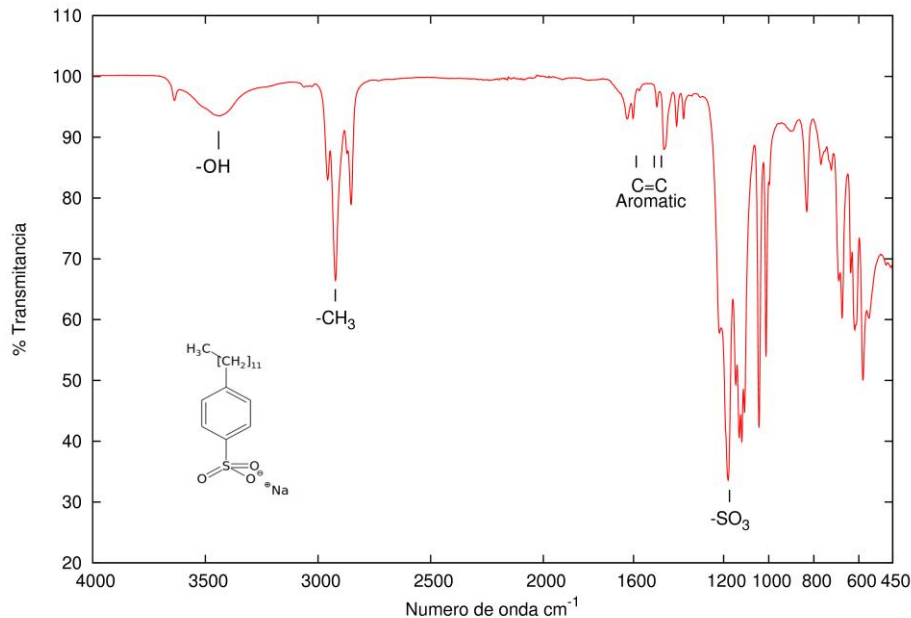


Figura 2. Espectro FT-IR del dodecibenceno sulfonato de sodio utilizado con las señales de los grupos funcionales presentes. Se puede observar que la cola hidrófoba es fuertemente lipofílica

Como se observa en el espectro FT-IR (figura 2), el dodecibenceno sulfonato de sodio es un compuesto formado por un anillo bencénico central disustituido en los carbonos 1 y 4 (posición para) con un grupo sulfónico ionizado (SO_3^-) y una cadena alquílica lineal de 12 átomos de carbono.

PARTE EXPERIMENTAL

Para la determinar la tensión superficial se utilizó el método del anillo de Du-Noüy, por medio un tensiómetro marca CENCO. El método del anillo es un método dinámico, por medio del cual se determina la fuerza necesaria para separar un anillo de la superficie de un líquido. En este método el anillo está suspendido de un sistema de hilo de torsión que ejerce una fuerza vertical hacia arriba y permite desprender al anillo de la superficie del líquido. La fuerza aplicada se mide por medio de un sistema tipo vernier y se relaciona con la tensión superficial.

La fuerza F_T utilizada para desprender el anillo es proporcional al producto de la tensión superficial y la periferia de la superficie de anillo que es desprendida ($F_T = 2 (2 \pi R) T_h$) Donde R es el radio del anillo, ($2 \pi R$) es el perímetro del anillo, T_h es la tensión superficial. El 2 adicional se añade considerando que el líquido toca al anillo tanto en la parte interna como en la externa. La ecuación anterior quedaría por tanto expresada como:

$$T_h = \frac{F_T}{4\pi R} \quad \text{ec (1)}$$

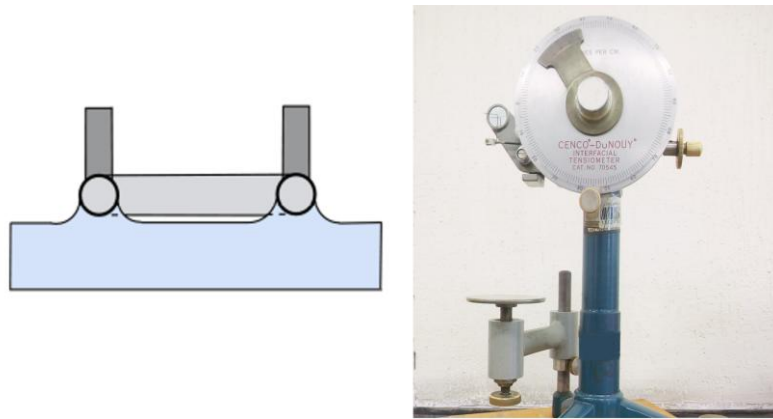


Figura 3. Izquierda. Esquema del momento en que el anillo extiende la superficie del líquido. Derecha. Tensiómetro de Du-Noüy marca CENCO utilizado en este trabajo.

La calibración del tensiómetro se realizó mediante la comparación de la tensión superficial de agua destilada en el intervalo de temperatura de 5 a 50 °C y los datos experimentales presentados por Vargaftik [6]. Con los datos de tensión obtenidos del tensiómetro se construyó un modelo de calibración explícito en tensión el cual se presenta con la ecuación:

$$Th_{exp} = m \left[\frac{F_T \left(\frac{W_s \cdot g}{F_{Tr}} \right)}{4 \cdot \pi \cdot R} \right] + b = m \cdot [X_{New}] + b \quad \text{ec(2)}$$

Donde W_s es una masa de referencia de 0.5 gramos, g es la gravedad local (978 cm/s²), F_{Tr} es la lectura de tensión necesaria para levantar la masa de 0.5 gramos a una posición de referencia en el tensiómetro (23 dinas/cm) y R es el radio de anillo (0.95366 cm). El parámetro m es adimensional cuya magnitud representa un factor de corrección presentado por Juárez y Villagarcía [7], el cual es más compacto el de Zuidema y Waters [8]. El parámetro b es un parámetro con unidades de tensión dinas/cm.

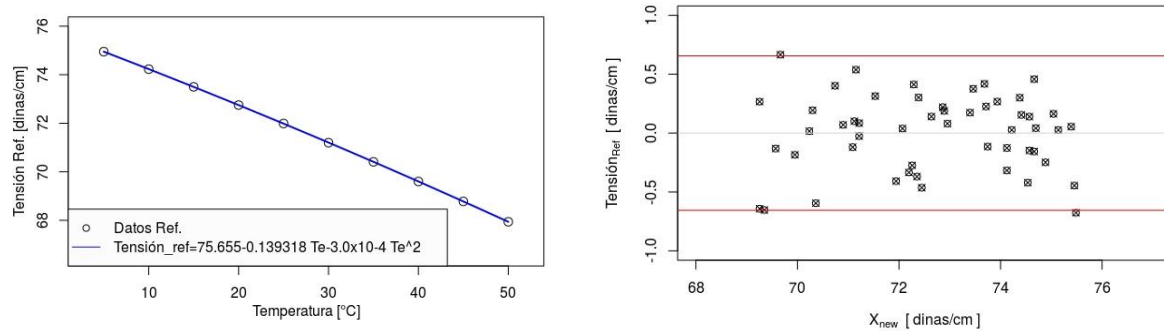


Figura 4. Izquierda: Función de referencia para la tensión superficial del agua construida con los datos presentados por Vargaftik [6]. Derecha: Residuos del modelo de calibración. Las líneas rojas marcan un intervalo de variación con un factor de cobertura del 95% respecto del ajuste.

RESULTADOS

Los valores de los parámetros m y b se obtuvieron por medio del algoritmo de Levenberg-Marquart y un modelo tipo costos para la minimización de la función de residuos, los resultados se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Resultados del ajuste del modelo de calibración respecto a la función de referencia. El error residual estándar fue de 0.3518 con 51 grados de libertad.

Estimación		Matriz de Correlación		Matriz de varianza-covarianza	
		m	b	m	b
m	0.1783	1.0	-0.9909(4)	1.9044e-05	-1.465e-03
b	58.9416	-0.9909(4)	1.0	-1.465e-03	0.1148(5)

Tabla 2. Distribución de la solución salina

Sal	masa [gramos]	% masa
NaCl	24.6596	0.704
K Cl	5.1526	0.147
MgSO ₄	4.1018	0.117
NaHCO ₃	1.1227	0.032
Total	35.0367	1.000

Se midió la tensión superficial de las soluciones agua/dodecilbenzeno sulfonato de sodio (A-DSS) y agua/salmuera/dodecilbenzeno sulfonato de sodio (A-DSS-SAL). Se determinó la concentración micelar crítica de (A-DSS) para tener un valor de referencia máximo para la solución (A-DSS-SAL). La concentración salina de la salmuera fue de 35.0367 g/L considerando el valor de la concentración de sales marina proporcionado por Knauth [9].

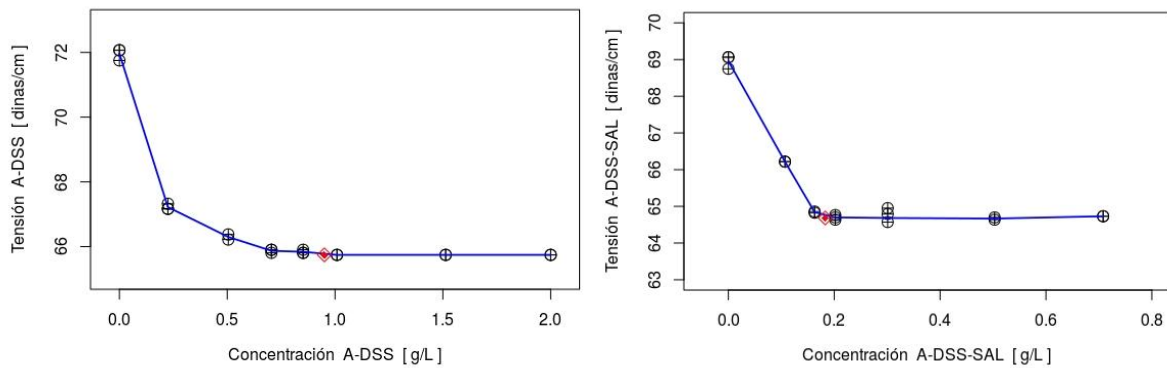


Figura 5. A) Curva de Tensión-Concentración de la mezcla agua/dodecilbenzeno sulfonato de sodio (A-DSS). B) Curva de Tensión-Concentración de la mezcla agua/dodecilbenzeno sulfonato de sodio/ solución salina (A-DSS-SAL). El ambos el punto rojo es la concentración micelar crítica.

Para la solución agua/dodecilbenzeno sulfonato de sodio (A-DSS) se determinó una concentración micelar crítica de 0.9505 g/L. Como se observa en la figura 5A, después de la concentración 0.9505 g/L ya no se observa una disminución en la tensión superficial. Las pequeñas oscilaciones después de la concentración micelar crítica determinada se deben a la sensibilidad del equipo utilizado.

Para la solución agua/salmuera/dodecilbenzeno sulfonato de sodio (A-DSS-SAL) se determinó una concentración micelar crítica de 0.2 g/L. Como se observa en la figura 5B, después de la concentración micelar crítica mencionada, ya no se observa una disminución en la tensión superficial significativa o que no estén asociadas la sensibilidad del tensiómetro.

Es importante observar que el efecto del dodecilbenzeno sulfonato de sodio sobre la tensión superficial se ve ampliamente favorecido con el medio salino es puesto que la concentración micelar crítica disminuye casi 5 veces en magnitud.

CONCLUSIONES

Como se puede observar en la figura 6, el efecto del dodecilbenzeno sulfonato de sodio (LABS) sobre la tensión superficial del agua es significativo, procediendo una disminución de 6.09468 unidades de tensión. La concentración micelar crítica se fijó a 0.9505 g/L debido a que si bien a la concentración de 0.1 g/L muestra una tensión ligeramente menor, dicha diferencia puede ser el efecto de la sensibilidad del equipo, puesto en cada punto experimental existe una diferencia de hasta 0.5 dinas.

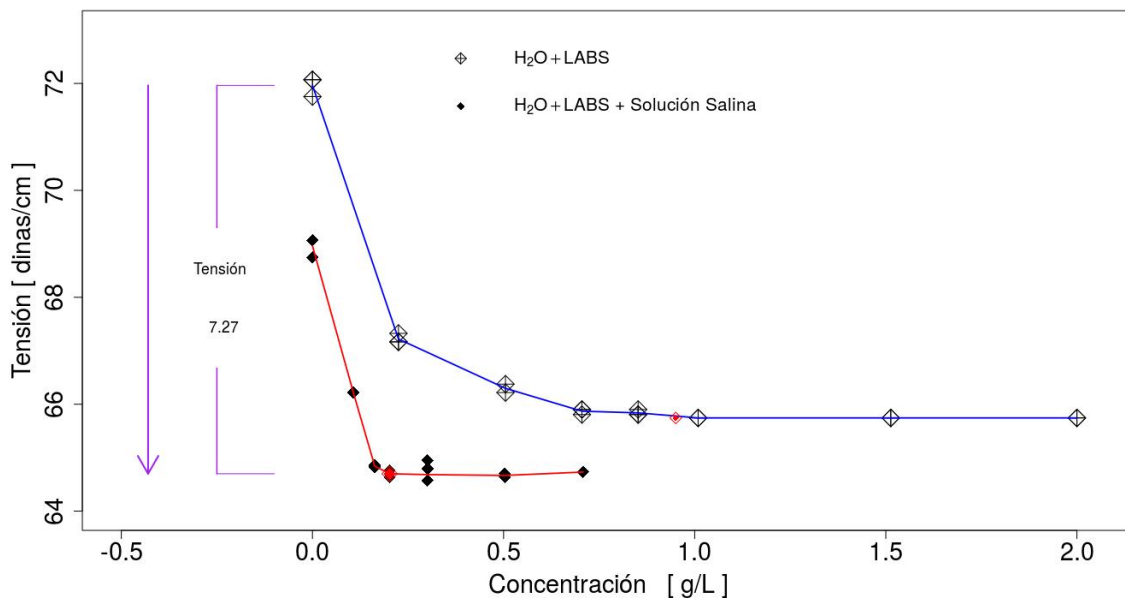


Figura 6. Disminución de la tensión superficial de las soluciones A-DSS y A-DSS-SA, donde se observa la contribución del efecto salino en la disminución de la tensión superficial.

También el efecto del tensoactivo dodecilbenzeno sulfonato de sodio (LABS) sobre la disminución de la tensión se vio favorecido con el efecto salino, al obtener una concentración micelar crítica del 0.2 g/L y una tensión superficial de 64.69 dinas/cm, representando una disminución de tensión superficial total de 7.27 dinas/cm, equivalentes a un efecto térmico de alrededor de 43 °C, lo cual no solo es importante en términos económicos al marcar una ahorro energético, también en el aspecto ecológico puesto que, si bien el dodecilbenzeno sulfonato de sodio se puede degradar fácilmente por medios convencionales de tratamientos de aguas, al utilizar una menor cantidad se disminuyen costos y tiempo de degradación.

BIBLIOGRAFÍA

1. "Geología del petróleo Sistemas petrolíferos EOR 101". Oil-EOR Handbook ESP. Edition 2016
2. "Evaluación de un proceso experimental de inyección de producto químico para incrementar el factor de recobro", Samantha Ethel Plandiura Mar, Tesis, Facultad de Ingeniería UNAM, 2013.
3. Eddy Matthijs, Martin S. Holt, Anton Kiewiet and Gerald B. J. Rijs, "Environmental Monitoring for linear alkylbenzene sulfonate, alcohol ethoxylate, alcohol ethoxy Sulfate, alcohol sulfate and soap", *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 18, No. 11, pp. 2634-2644, 1999.
4. Drew C. McAvoy, Scott D. Dyer, Nicholas J. Fendinger, William S. Eckhoff, David L. Lawrence and William M. Begley, "Removal of alcohol ethoxylates, alkyl ethoxylate sulfates and linear alkylbenzene sulfonates in wastewater treatment", *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 17, No. 9, pp. 1705–1711, 1998.
5. Watze de Wolf and Tom Feijtel, "Terrestrial risk assessment for linear alkyl benzene sulfonate (LAS) in sludge-amended soils", *Chemosphere*, Vol. 36, No. 6, pp. 1319-343, 1998.
6. N. B. Vargaftik, B. N. Volkov, L.D. Voljak, "International Tables of the Surface Tension of Water", *J. Phys. Chem. Ref. Data*, Vol. 12, No 3, (1983). pp 819.
7. Celene Juárez Ignacio, Ezequiel Villagarcía Chávez, Alberto Mijares Rodríguez, Selene Capula Colindres, Esther Torres Santillán, "Medición de la Tensión superficial en la industria de pinturas y recubrimientos con cálculo de incertidumbre", *Avances de la Ciencia en México* (2017), Centro de Investigaciones en Óptica, Capítulo 7, pp 3955 - 3963.

8. H. H. Zuidema and G. W. Waters, "Ring Method for the Determination of Interfacial Tension", *Ind. Eng. Chem.* (1941), Vol. 13, pp 312.
9. L. Paul Knauth, "Temperature and salinity history of the Precambrian ocean: Implications for the course of microbial evolution Palaeogeography", *Palaeoclimatology, Palaeoecology* 219 (2005), pp. 53-69.

LAS PROPIEDADES PERIÓDICAS DE LOS ELEMENTOS (PPE), UNA FUENTE DIDÁCTICA PARA LA ENSEÑANZA DE LOS MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS

María de Jesús Santa Gutiérrez Ponce

Instituto de Química Aplicada de la Universidad del Papaloapan, Campus Tuxtepec.
mgutierrez@unpa.edu.mx

RESUMEN

La quimiometría es una disciplina que integra métodos matemáticos, estadísticos y químicos para el análisis de datos multivariados (como perfiles cromatográficos, espectros infrarrojos de mezclas y/o de productos terminados) y para la planeación optimizada de experimentos. Generalmente, esta disciplina se imparte en los últimos semestres de la carrera, con el fin de que el alumno universitario ya tenga sólidos conocimientos en química, que le permitan visualizar la información que puede obtener a través de los diversos experimentos y las herramientas quimiométricas que serán necesarias para tal fin. Pero, los ejemplos que se logran obtener en los libros del área^{1,2} terminan siendo lejanos a la comprensión del alumno, ya sea por tratarse de datos experimentales que no son familiares, o por, aparecer sólo ejemplos numéricos, que los aproximan más a una visión matemática que a la del análisis de resultados químicos. El presente trabajo tuvo como objetivo evidenciar la utilidad de las PPE en la enseñanza de la quimiometría, ya que ellas presentan valores numéricos tan disímiles en magnitud que permite ilustrar la ganancia en la normalización de datos, dando una idea más clara de la utilidad de los pretratamientos. La variedad de PPE permite correlacionar propiedades, dejando evidente para el alumno la utilidad de selección de datos que originan a los componentes principales de un sistema. También, es posible ver la diferencia de los resultados al realizar un análisis clasificatorio con y sin supervisión, dejando en evidencia la necesidad del conocimiento químico para el adecuado tratamiento de datos sin pérdida o alteración de la información, todo esto, fue logrado con ayuda del programa excel2007 accesible y fácil.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la obtención de información relevante a partir de los resultados de un experimento químico puede involucrar la revisión de un gran número de variables. Siendo que, muchas veces un pequeño número de estas variables contiene las informaciones químicas más importantes, en tanto que la mayoría de las variables adicionales poco o nada a la interpretación de los resultados en términos químicos. La decisión sobre cuáles son las variables más importantes se puede hacer usando herramientas quimiométricas³.

La Quimiometría tiene varias acepciones que van desde la más simple que la define como: "La aplicación de herramientas matemáticas y estadísticas a la química". Hasta la que la detalla como: "disciplina química que utiliza métodos matemáticos, estadísticos y la lógica formal para planear u optimizar procedimientos experimentales, así como, para extraer el máximo de información química mediante el análisis de datos, además de posibilitar la obtención de conocimiento sobre sistemas químicos".² Esta última definición permite vislumbrar una división natural de la quimiometría en dos grandes áreas: la primera que estudia el diseño y planeación de experimentos y la segunda que se enfoca a la obtención de información química e interpretación de resultados.

El presente trabajo se enfoca en la segunda área y busca explicar los primeros pasos en el análisis exploratorio de datos a través de las PPE.

ANÁLISIS EXPLORATORIO DE DATOS

El primer paso en el análisis de datos es la organización de los mismos en matrices que consisten en "n" medidas de diferentes propiedades que llamamos variables que son aplicadas sobre "m" muestras llamadas objetos, de modo que la matriz de datos D está formada por $m \times n$ elementos con m líneas correspondientes a las muestras y n columnas correspondientes a las variables. De tal forma que una variable es representada por un vector columna, y un objeto, o sea, una muestra, es representada por un vector línea, llamado vector de respuesta que puede ser descrito como un punto en el espacio de n-dimensiones. En ocasiones hay variables que no existen para determinadas muestras y será necesario decidir que dato deberá ir en su lugar, algunos autores recomiendan colocar el valor medio de la variable, otros prefieren eliminar las muestras que no tienen todos los

datos, ambas acciones, requieren del conocimiento del sistema en estudio para tomar la mejor decisión, sin pérdida o distorsión de la información.

Estandarización y escalamiento

Una vez que se organizaron los datos en forma matricial, es necesario estandarizarlos y escalarlos cuidando de expresar cada observación en términos de variaciones inherentes al sistema (autoescalamiento). Para ejemplificar la importancia de este tratamiento a la matriz de datos, se puede analizar el intervalo de algunas propiedades periódicas de los elementos, en este caso para el grupo 18. La diferencia en magnitudes entre la densidad y la energía de ionización es muy grande y no sería conveniente compararlas entre sí, tabla 1.

Tabla 1. PPE para el grupo 18 donde: RA = Radio atómico; EI = Energía de Ionización, CT = Conductividad Térmica; D = Densidad; S°= Entropía estándar; CE = Calor Específico.

Propiedad	RA	EI	CT	D	S°	CE
Elemento	(pm)	(kJ mol ⁻¹)	(W m ⁻¹ K ⁻¹)	(g cm ⁻³)	(J K ⁻¹ mol ⁻¹)	(J g ⁻¹ °C ⁻¹)
He	128	2370	0.1513	0.000166	126.15	5.23
Ne	38	2080	0.0491	0.000839	146.33	1.03
Ar	71	1520	0.01772	0.001663	154.84	0.523
Kr	88	1350	0.00943	0.003488	164.08	0.247
Xe	108	1170	5.5	0.005495	169.68	0.159
Rn	120	1036	0.00361	0.00996	173.811	0.092
Intervalo	[38,128]	[1036, 2370]	[0.00361, 5.5]	[0.000166, 0.005495]	[126.15, 173.811]	[0.092, 5.23]

La comparación directa entre variables llevaría a una ponderación mayor de las variables con mayor valor numérico (por ejemplo la energía de ionización). Al realizar una transformación sobre el conjunto original de datos de modo que cada media sea cero y su varianza igual a uno (auto escalamiento o transformación z, según la ecuación 1) se posibilita la comparación de los datos sin perder información estadística de ellos. Esta observación es más clara al graficar las mismas PPE para los elementos del grupo 18, originales y escalonadas, gráficos 1 y 2.

$$X_n = \frac{x_n - \bar{x}}{s} \quad 1)$$

Donde X_n es la variable o propiedad del elemento n, \bar{x} el valor medio de la variable y s la desviación estándar de la misma.

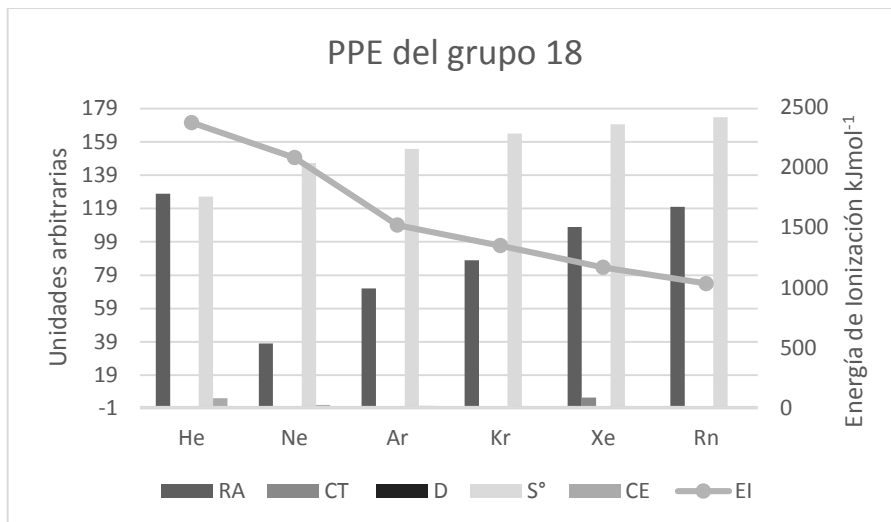


Gráfico 1. PPE del grupo 18 las abreviaturas son iguales que las usadas en la Tabla 1, y las unidades son para RA = (pm), EI = (kJ mol⁻¹), CT = Conductividad Térmica (W m⁻¹ K⁻¹), D= (g cm⁻³); S°= (J K⁻¹ mol⁻¹) y CE = (J g⁻¹ °C⁻¹).

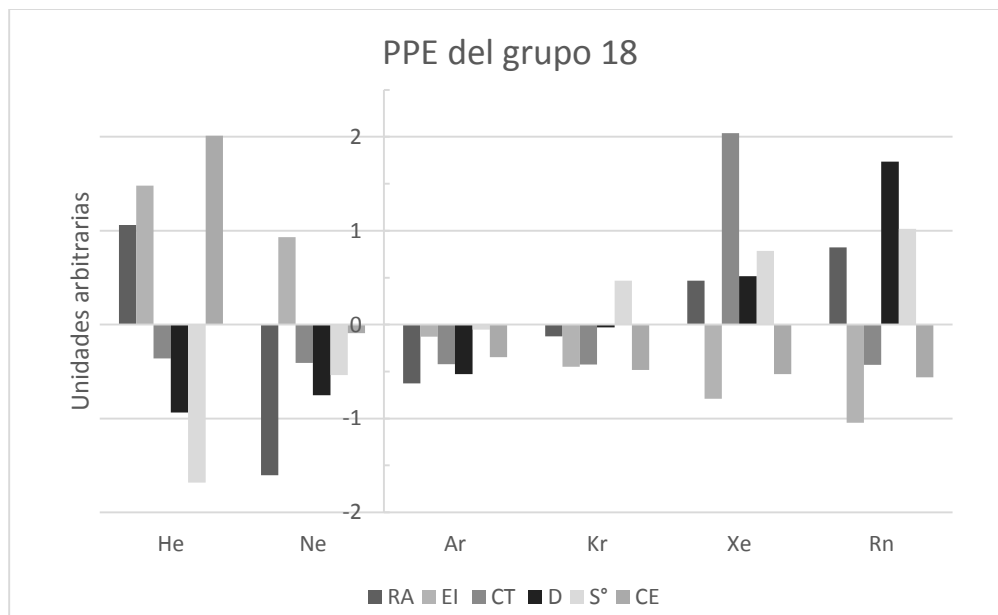


Gráfico 2. PPE escalonadas del grupo 18 las abreviaturas son iguales a las usadas en la Tabla 1.

Como es posible observar en el gráfico 1 a pesar de usar dos escalas diferentes al mismo tiempo las propiedades con valores menores a uno no son perceptibles. En cambio, en el gráfico 2 se pueden apreciar con la misma escala todas las PPE y con ellas es posible confirmar a simple vista una baja semejanza entre todos los elementos del grupo, esta afirmación podrá ser confirmada con otras herramientas quimiométricas.

Si en vez de un grupo, usamos 40 de los elementos representativos, que tengan los valores experimentales de las propiedades elegidas, H, Li, Na, K, Rb, Cs, Be, Mg, Ca, Sr, Ba, B, Al, Ga, In, Tl, C, Si, Ge, Sn, Pb, N, P, As, Sb, Bi, O, S, Se, Te, F, Cl, Br, I, He, Ne, Ar, Kr y Xe, puede efectuarse

un tratamiento semejante, los datos normalizados pueden ser representados gráficamente como se muestra en el gráfico 3.

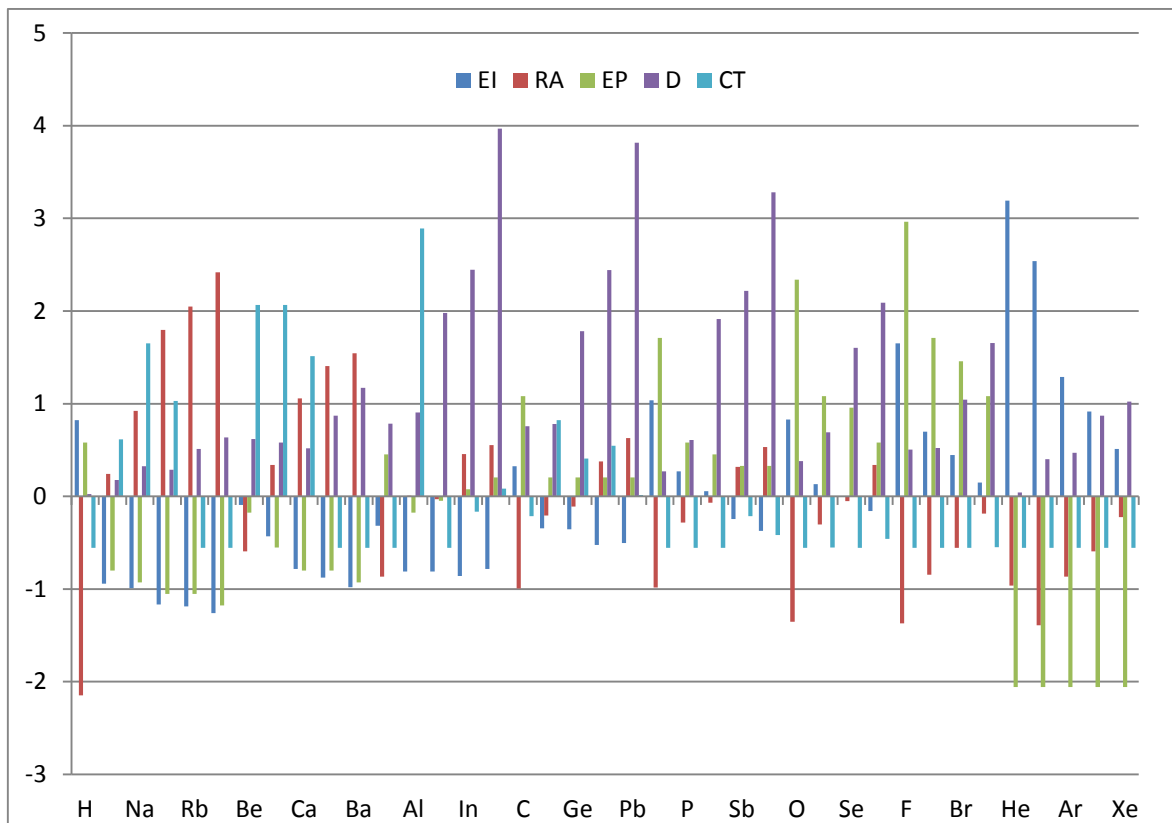


Gráfico 3. PPE escalonadas de H, Na, Rb, Be, Ca, Ba, Al, In, C, Ge, Pb, P, Sb, O, Se, F, Br, He, Ar y Xe usando 40 elementos representativos, siendo EP = Electronegatividad de Pauling, las demás abreviaturas son iguales a las usadas en la Tabla 1.

Este ejemplo sirve también para ejemplificar las acciones que se pueden efectuar al encontrarnos con datos faltantes en la matriz de datos, pues como no existe valor experimental para la electronegatividad de Pauling, es necesario cuestionar al alumno cual será la mejor decisión para llenar el dato faltante. En el ejemplo se usó el valor medio de la propiedad dividido entre su desviación estándar y más adelante se verá el efecto de dicha decisión.

Correlación de variables

Como ya se mencionó cada objeto (muestra) es representado por un punto en el espacio n-dimensional y, por tanto, puede ser agrupado con otros que estén próximos él. Comúnmente se usan dos criterios de asociación que son: a) la covarianza y la correlación y b) las medidas de distancias. En este caso usaremos la correlación por ser una operación factible en el programa Excel 2007

Regresando al ejemplo con el grupo 18, si quisiéramos encontrar las variables que lo describen mejor, componentes principales, sería conveniente encontrar las PPE que contienen información semejante para evitar trabajo computacional excesivo. Así, al construir los gráficos datos normalizados de RA *versus* (vs) EI, CT, D y CE se puede comprobar que ninguna de las propiedades presenta correlación superior a 0.1971 como se observa en los gráficos de la figura 1

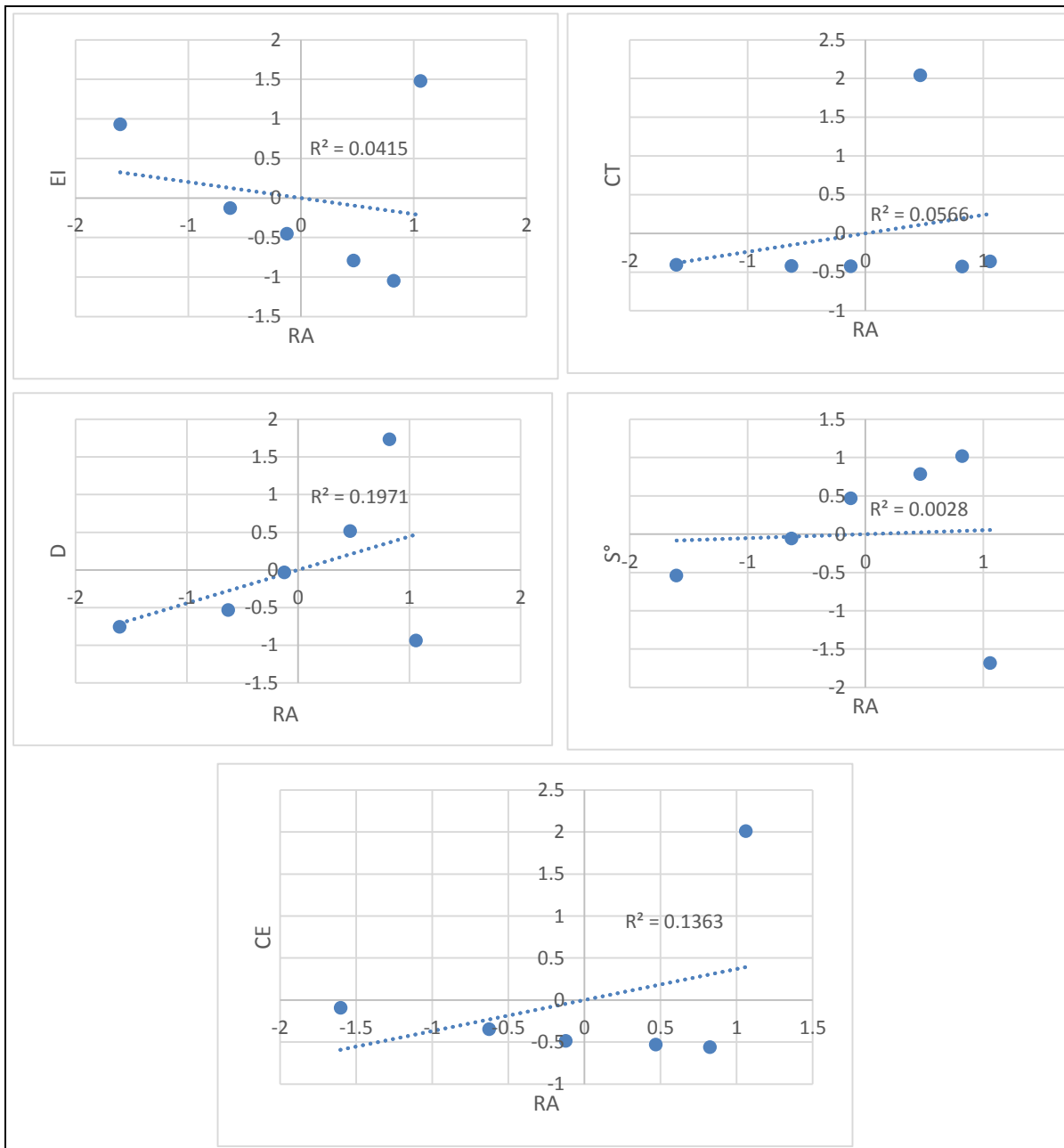


Figura 1. Gráficos de correlación de las PPE escalonadas del grupo 18 de RA vs EI, CT, D y CE.

Al continuar construyendo los gráficos de correlación de los datos normalizados se logran obtener dos con coeficientes de correlación mayores a 0.7, uno EI vs D con R^2 de 0.7154 y otro de EI vs S° con $R^2 = 0.9544$ dichos gráficos se presentan en la figura 2. Con esta información es posible hacer un trabajo de componentes principales con 4 de las cinco PPE seleccionadas y compararlo con una usando sólo 3, para verificar si un coeficiente de correlación superior a 0.7 se puede usar en la selección de datos.

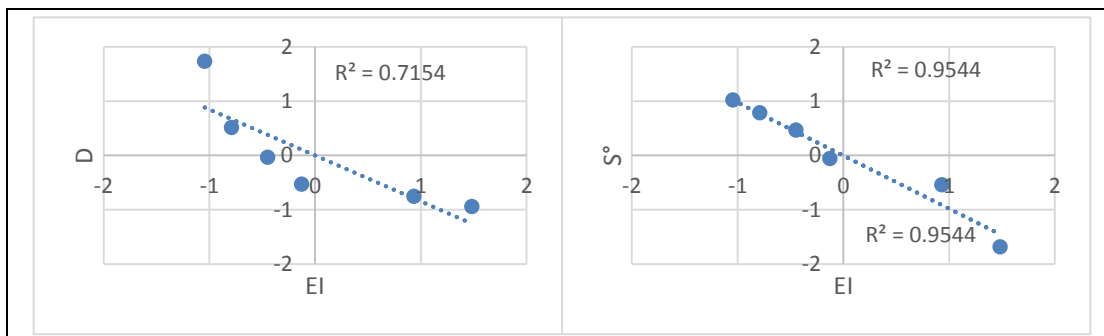


Figura 2. Gráficos de correlación de las PPE escalonadas del grupo 18 de EI vs D y S°

De manera similar a lo realizado con la normalización de datos progresivamente, primero para un grupo y después para 40 elementos, es posible realizar la correlación de las propiedades normalizadas y al hacerlo se debe ir siguiendo los resultados por su representación gráfica, como se hizo para el grupo 18. Por ejemplo, al hacer la correlación entre la EI y la EP de los 40 elementos queda en evidencia que 5 puntos en la gráfica arruinan la tendencia pues la coordenada en y es constante y próxima de -2, Gráfico 4. Dichos valores son justo los que fueron agregados a la matriz de datos con la finalidad de llenar un espacio vacío, ahora será necesario reflexionar si el agregar ese dato (la media de las electronegatividades de Pauling, dividida por la desviación estándar) fue una buena decisión. Las alternativas son buscar un número que represente mejor la EP para los gases nobles o eliminar los gases nobles del estudio. Haciendo esta última acción la R^2 aumenta a 0.8546.

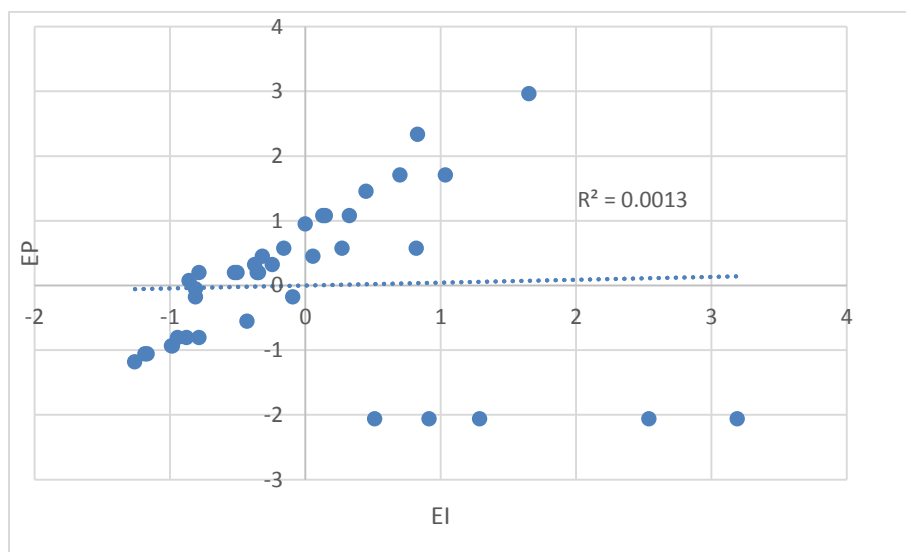


Gráfico 4. Gráficos de correlación de las PPE escalonadas de 40 elementos representativos de EI vs EP.

Cálculo de las distancia como medida de la similitud de datos

Otro de los criterios de similitud son las medidas de distancias, elementos más próximos en el espacio n dimensional se clasifican en una misma categoría o grupo. En este trabajo se empleó la distancia euclidiana por tratarse del concepto con el que el alumno está más familiarizado. Además, se usó el método del vecino más próximo. Por el tamaño de las tablas, se presenta sólo la primera parte de la tabla de distancias, con los grupos uno y dos, tabla 2.

Tabla 2. Distancias euclidianas para los grupos 1 y 2 de la tabla periódica

	Li	Na	K	Rb	Cs	Be	Mg	Ca	Sr	Ba
H	3.48	4.46	4.97	4.95	5.35	3.32	4.02	4.39	4.26	4.52
Li		1.25	1.65	2.21	2.56	2.03	1.61	1.27	3.46	2.02
Na			1.10	2.5	2.71	1.98	1.02	0.36	2.33	2.44
K				1.62	1.75	2.97	2.02	1.02	1.77	1.85
Rb					0.42	3.98	3.26	2.34	0.83	0.86
Cs						4.28	3.50	2.55	1.17	1.09
Be							1.06	1.98	3.46	3.62
Mg								1.01	2.89	3.02
Ca									2.13	2.23
Sr										0.37

Con estos valores se localizan los elementos más próximos entre sí y se van recalculando las distancias entre el nuevo grupo y los elementos restantes. En la tabla 2 se puede observar la similitud del Na y Ca (0.36), así como del Sr y Ba (0.37). Sin embargo, el primer grupo formado es Se-I con una distancia entre ellos de 0.24.

Al realizar el cálculo de las distancias se tiene una nueva tabla de datos semejante a la que se presenta en la tabla 3, nuevamente se presentan los primeros datos de la tabla, por falta de espacio. Este proceso se va repitiendo hasta terminar con los 40 elementos seleccionados los grupos y se puede ir colectando la información en una tabla semejante a la presentada en la tabla 4. En la diagonal se van organizando las distancias entre elementos por separado y entre grupos y elementos, como es el caso del grupo Sb-Te con As. El primer grupo que se va formando naturalmente es el grupo 2 con Sr y Ba, le siguen Rb y Cs del grupo 1 y el grupo 18 pues justamente primero se unen Kr y Xe para después juntarse con el Ar. Otra observación importante es el hecho de que los no metales se unan entre sí.

Tabla 3. Distancias euclidianas para Se-I y los grupos 1 y 2 de la tabla periódica

	H	Li	Na	K	Rb	Cs	Be	Mg	Ca	Sr	Ba
Se_I	2.69	2.73	3.46	3.61	3.32	3.63	3.07	3.24	3.22	2.55	2.69
H		3.48	4.46	4.97	4.95	5.35	3.32	4.02	4.39	4.26	4.52
Li			1.25	1.65	2.21	2.56	2.03	1.61	1.27	3.46	2.02
Na				1.09	2.50	2.71	1.98	1.02	0.36	2.33	2.44
K					1.62	1.75	2.97	2.02	1.02	1.78	1.85
Rb						0.42	3.98	3.26	2.34	0.84	0.86
Cs							4.28	3.50	2.55	1.17	1.09
Be								1.06	1.98	3.46	3.62
Mg									1.01	2.89	3.02
Ca										2.13	2.24
Sr											0.37

Tabla 4. Distancias euclidianas para los primeros 12 grupos derivados de 40 elementos representativos de la tabla periódica

	I	Pb	Ca	Ba	Te	Cs	Cl	As	P	Xe	As_SbTe	Ar
Se	0.24											
Tl		0.34										
Na			0.37									
Sr				0.37								
Sb					0.39							
Rb						0.42						
N							0.44					
Sb_Te								0.52				
S									0.53			
Kr										0.57		
Se_I											0.59	
Kr_Xe												0.61

Por último, es posible calcular el índice de similitud, conforme la ecuación 2, para cada grupo y construir la tabla correspondiente, los elementos más semejantes están más próximos a 1 y los menos similares próximos a cero, a continuación se muestra parte de la tabla resultante, tabla 5.

$$\text{Índice de Similaridad} = 1 - \frac{d_{AB}}{d_{\text{máxima}}} \quad 2)$$

Tabla 5. Índice de similitud para los primeros 12 grupos derivados de 40 elementos representativos de la tabla periódica.

	I	Pb	Ca	Ba	Te	Cs	Cl	As	P	Xe	As_SbTe	Ar
Se	0.82											
Tl		0.75										
Na			0.73									
Sr				0.73								
Sb					0.71							
Rb						0.69						
N							0.68					
Sb_Te								0.62				
S									0.61			
Kr										0.58		
Se_I											0.57	
Kr_Xe												0.55

Es posible construir grupos entre muestras de acuerdo a su semejanza, utilizando todas las variables disponibles, y representarlos de manera bidimensional a través de un dendograma, dicho gráfico tendrá que ser construido por el alumno, pues Excel 2007 no cuenta con esa opción.

CONCLUSIONES

Se logró ejemplificar las principales acciones de pretratamiento de datos para cálculos quimiométricos con ayuda de las PPE y un programa de cómputo no especializado. Con ello se consigue que el alumno acompañe las transformaciones y conozca los efectos de las mismas para evitar pérdida o distorsión de la información.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ramis, Ramos G. Álvarez-Coque C. Quimiometría, Ed. Síntesis, España 2010, 337p.
2. Castro, Ferreira M. Quimiometria, Ed. unicamp, Brasil 2015, 493p.
3. Moita Neto J. M. y Ciaramella M. G. Uma Introdução À Análise Exploratória de Dados Multivariados Química Nova, 21(4) (1998) 467-469

EFFECTO CRÓNICO DE LEPTINA SOBRE CORRIENTES IÓNICAS EN CÉLULAS DE NEUROBLASTOMA

Rebeca Isabel Vergara Reyes, Patricia Cervantes Acosta, Mara Elisa Salazar Calderón, Antonio Hernández Beltrán y Belisario Domínguez Mancera

Universidad Veracruzana

RESUMEN

El estudio del desarrollo y función neural se ha favorecido con el establecimiento y uso de líneas celulares como la N1E-115, que prolifera ilimitadamente y desarrolla neuritas cuando se expone a diferentes agentes. Para determinar el efecto crónico (48-72 hrs) de la hormona anorexigénica Leptina –LEP- sobre las células N1E-115, se aplicó sola o en combinación con Dimetilsulfóxido –DMSO- (agente promotor del desarrollo de neuritas). Los tratamientos fueron: LEP (10nM), DMSO (1.5%) y LEP (10nM) +DMSO (1.5%); se cuantificó el efecto sobre su actividad eléctrica midiendo las corrientes iónicas (CI) con la técnica *Patch clamp* en su configuración de célula completa. El análisis estadístico fue por ANDEVA de una vía. Los resultados muestran que las células mantenidas en medio de cultivo estándar (DMEM+SFB10%) sin tratamiento, no muestran desarrollo neurítico; LEP, DMSO y LEP+DMSO estimulan las células a producir neuritas y redes neurales. Las células diferenciadas se sometieron a registro electrofisiológico. Las CI entrantes (Ca^{2+} , Na^{+}) incrementaron ($p < 0.05$) $\sim 1.5 \pm 0.5$ veces en los tres tratamientos; así como, las salientes (K^{+}) respecto al valor control. En conclusión, Leptina promueve diferenciación y actividad eléctrica.

INTRODUCCIÓN

La hormona Leptina se encarga de producir la sensación de saciedad en el organismo; así como de controlar el consumo voluntario y el balance energético, es liberada por los adipocitos al torrente sanguíneo (Zhang *et al.*, 1994). Para ejercer su función, debe unirse a receptores específicos ubicados en neuronas especializadas del hipotálamo (núcleo Arcuato) y con ello promover la liberación de los neuropéptidos: Proopiomelanocortina (POMC) y Transcripto Relacionado a Cocaína-Anfetamina (CART) ambos con efectos anorexigénicos (Kristensen *et al.*, 1998; Roth *et al.*, 2002). Estas células son eléctricamente excitables; es decir, capaces de generar potenciales de acción de manera espontánea y en respuesta a estímulos, eléctricos, mecánicos y químicos. Las variaciones del voltaje de la membrana son el resultado del flujo de iones a través de proteínas estructurales de membrana que censan el voltaje, conocidas como canales iónicos dependientes de voltaje (*voltage gated*); los cuales son selectivos y solo permiten el paso de un ion específico (Caterall, 1995). Para registrar la actividad eléctrica en las membranas excitables de las células se han desarrollado técnicas específicas que pueden censar el flujo iónico, tal es el caso de la técnica conocida como *Patch clamp* (Sakmann y Neher, 1995)

El estudio de la biología de las células excitables se ha favorecido con el empleo de células tumorales, las cuales pueden proliferar ilimitadamente y con ello brindan un abastecimiento constante. Tal es el caso de las células N1E-115 (Amano *et al.*, 1972) que son una subclona de la línea celular C-1300 (Schubert *et al.* 1969), la cual proviene de un neuroblastoma de células de ratón (*Mus musculus*). Estas células crecen en monocapa con medio de cultivos estándar y al colocar dimetil sulfoxido (DMSO) en concentraciones de 1-2% estimulan la formación de neuritas (axones y dendritas) y se diferencian a neuronas (Kimhi *et al.*, 1975). El estudio de los efectos de la leptina sobre las corrientes iónicas de células nerviosas localizadas en núcleos del hipotálamo, usando a las células N1E-115 como modelo *in vitro* de células nerviosas, podría resultar de utilidad para resolver algunas de las incógnitas prevalecientes acerca de su mecanismo de acción.

TEORÍA

Leptina (LEP), es una hormona pleiotrópica constituida por una cadena de 146 aminoácidos, cuyo nombre proviene del griego *Leptos* que significa delgado. Su descubrimiento en 1994 por el genetista Jeffrey Friedman permitió establecer la existencia de un complejo sistema neuroendócrino que regula la ingesta alimenticia y el balance energético del organismo (Zhang *et al.*, 1994). Dicha hormona es liberada por los adipocitos al torrente sanguíneo, atraviesa la barrera hematoencefálica y es reconocida por neuronas especializadas localizadas en diferentes zonas del hipotálamo, de las

cuales destaca el núcleo arcuato (ARC) (Wang *et al.*, 2008). Leptina estimula la liberación de los neuropéptidos con función anorexigénica Proopiomelanocortina (Balthasar *et al.*, 2004) y Transcripto Relacionado a Cocaína-Anfetamina (Thim *et al.*, 1998) (POMC y CART por sus en inglés) al unirse a sus receptores específicos en la membrana plasmática de células nerviosas; de esta manera, genera una sensación de saciedad en el organismo (Tartaglia *et al.*, 1995).

Las neuronas son células eléctricamente excitables; es decir, células con capacidad de producir y propagar el potencial de acción (impulso eléctrico) necesario para la transmisión de la información, dicha actividad eléctrica es controlado por proteínas estructurales de membrana conocidas como canales iónicos dependientes de voltaje (Caterall, 1995). El empleo de la técnica *Patch-clamp* en sus diferentes modalidades (Hamill *et al.*, 1981; Edwards *et al.*, 1989) permitió identificar y caracterizar los canales iónicos que participan en la actividad eléctrica en diferentes células, nerviosas, endocrinas y musculares.

El potencial de acción es la variación regenerativa del voltaje de membrana el cual inicia con la apertura de los canales iónicos de calcio de bajo umbral de activación (Low Voltage Activation), estas fluctuaciones acerca el voltaje a umbral de apertura de los canales de sodio poniendo en marcha la fase de ascenso del potencial de acción que culmina con la apertura de los canales de calcio de alto umbral de activación (High Voltage Activation); la fase de descenso o repolarización de la membrana se lleva a cabo por la apertura secuencial de las distintas poblaciones de canales de potasio; la modificación de estas proteínas en su número o en su cinética de activación o desactivación afecta la frecuencia y morfología del potencial de acción y por ende, la función de la célula excitable, secreción (endocrina), contracción (músculo) o transmisión de impulsos (neurona) (Hille, 2001).

En los mamíferos, los canales iónicos determinan importantes procesos como: la excitación del nervio y del músculo, la secreción de hormonas y neurotransmisores, la transducción sensorial, el control del equilibrio hídrico y electrolítico, la regulación de la presión sanguínea, la proliferación celular y los procesos de aprendizaje y memoria (Caterall, 2010).

El estudio de las propiedades biofísicas de las células excitables, y con ello el estudio de los canales iónicos dependientes de voltaje se ha visto favorecido por el uso de líneas celulares tumorales, destaca la línea celular N1E-115, células derivadas de la cresta neural embrionaria del ratón (*Mus musculus*) desarrolladas a partir de la línea C-1300 (Schubert *et al.*, 1969) las cuales se han utilizado como un excelente modelo *in vitro* de célula nerviosa debido a que poseen la capacidad de desarrollar excitabilidad eléctrica, proliferar de manera ilimitada y desarrollar neuritas (dendritas y axón) (Moolenaar y Spector, 1978) después de ser expuestas a diferentes agentes como Dimetilsulfóxido (DMSO), hormona del crecimiento o veneno de anémona marina.

El estudio de los efectos a largo plazo (24-72 horas) de LEP en concentraciones de 10 nM sobre las corrientes iónicas de células nerviosas localizadas en núcleos del hipotálamo con el uso de las células N1E-115 como modelo *in vitro*, podría resultar de utilidad para resolver incógnitas prevalecientes acerca de su mecanismo de acción.

PARTE EXPERIMENTAL

Las células N1E-115 se cultivaron en medio de cultivo (*Dubelcco's Modified Eagle Medium*) (Biocell®) suplementado con Suero Fetal Bovino FBS (10%) y antibiótico (Gentamicina 4%) en estufa con temperatura de 37.0°C/CO₂ 5%. Cuando las células llegan al 80% de confluencia son cosechadas con Tripsina-EDTA y sembradas en cajas Petri de 35 mm de diámetro. Después de 24 horas de sembradas, se cambió el medio de cultivo de mantenimiento a medio de cultivo para promover su diferenciación [DMEM + SFB 0.5%, Dimetilsulfoxido 1.5% y antibiótico (4%)] (Roth *et al.*, 2002). Las células fueron tratadas con Leptina (American Peptide®) 10 nM (Figura 1); para analizar la curva temporal se realizaron tratamientos en 0, 24, 48 y 72 hrs.

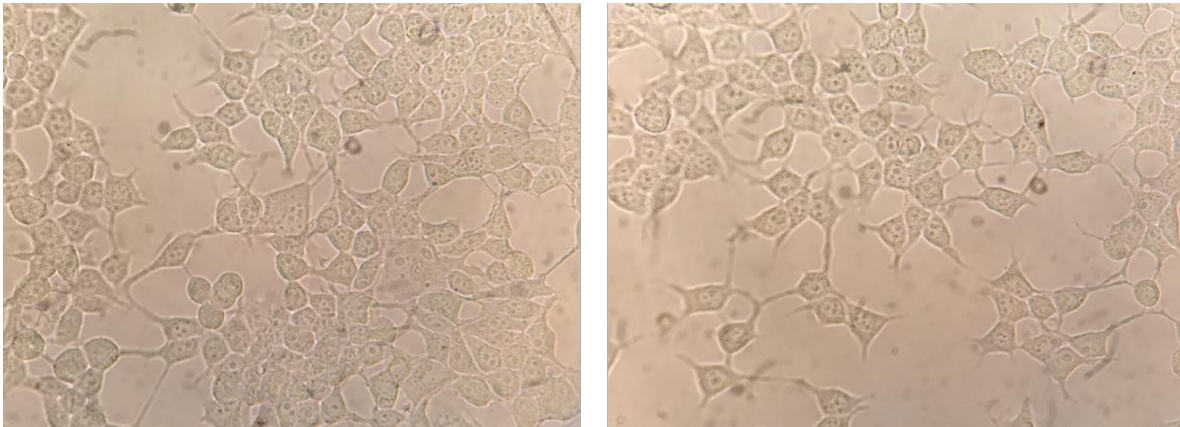


Figura 1. Células N1E-115 estimuladas con LEP (10 Nm) durante 72 horas. Las células presentan diferenciación celular (desarrollo de axones y dendritas).

Con la finalidad de registrar las corrientes iónicas en las células N1E-115, se utilizó la técnica de *path clamp* en su configuración de célula completa (Whole Cell Recording); en la modalidad fijación de voltaje (voltage clamp) con la cual se obtiene el registro de corrientes totales y disecciona los componentes que subyacen la corriente iónica de membrana. El registro electrofisiológico se realizó entre 19 y 22 °C. Las cajas Petri que contienen las células se trasladan de la incubadora de cultivo a una cámara de experimentación montada en la platina de un microscopio invertido (DMIL, Leica). La cámara contiene aproximadamente 2 ml de solución externa de registro y se conecta a tierra mediante un electrodo de referencia. Las concentraciones para registrar la corriente total fueron las siguientes: Sol. Externa (mM): 145 NaCl, 5 KCl, 5 CaCl₂, 10 Hepes y 5 glucosa; pH 7.30, ajustado con NaOH. Sol. Interna (mM): 100 KCl, 30 NaCl, 2 MgCl₂, 1 CaCl₂, 10 EGTA, 10 Hepes, 2 ATP, 0.05 GTP, y 5 glucosa (pH 7.30 ajustado con KOH 1M). (Gomora *et al.*, 1996); para registrar solo la corriente de calcio, la composición de las soluciones fue la siguiente: Sol. Externa (mM): 133 NaCl, 10 TEA, 10 BaCl₂, 0.001 TTX, 10 Hepes, 5 glucosa, (pH 7.30 ajustado con NaOH) Sol. Interna (mM): 100 CsCl, 30 NaCl, 10 EGTA, 1 CaCl₂, 2 MgCl₂, 2 ATP, 0.05 GTP, 10 Hepes y 5 glucosa (pH 7.30 ajustado con CsOH) (Kwiecien *et al.*, 1998); para registrar la corriente de sodio la composición de las soluciones fue la siguiente: Sol. Externa (mM): 150 NaCl, 2 CaCl₂, 0.5 CdCl₂, 10 Hepes y 5 glucosa; pH 7.30, ajustado con NaOH. Sol. Interna (mM): 100 CsCl, 30 NaCl, 10 EGTA, 1 CaCl₂, 2 MgCl₂, 2 ATP, 0.05 GTP, 10 Hepes y 5 glucosa (pH 7.30 ajustado con CsOH). (Monjaraz *et al.*, 2000). Para llevar a cabo la captura y análisis de las señales de voltaje, se ocupó el programa pCLAMP v10.1 de Axon Instruments. Los electrodos se elaboraron con cristal duro de borosilicato en un estirador vertical (P30; Sutter Instruments Co.) con resistencias entre 4.5 - 5.5 MΩ. Las micropipetas se llenaron con solución interna de registro cuya composición varía acorde con la corriente iónica que se desea registrar. Para los análisis estadísticos se utilizó análisis de la varianza (ANDEVA) y el procedimiento de diferencia de medias de Tukey ($p < 0.05$) del paquete estadístico STATISTICA v 10.0 para Windows StatSoft, Inc. (2010); para conocer las significancias entre tratamientos y el control. Las gráficas se elaboraron con el programa SigmaPlot (2011) v10; en ellas se muestran los valores promedio \pm error estándar de la media en cada grupo experimental dentro de cada experimento, así como la "n" de cada experimento.

RESULTADOS

Las células N1E-115 exhibieron corrientes entrantes (sodio y calcio) y salientes (potasio) en respuesta a pulsos despolarizantes de amplitud variada que inician de un potencial de mantenimiento a -80 mV; en la Figura 2, se visualizan familias de trazos de corriente evocadas por un protocolo de pulsos despolarizantes con una duración de 300 ms con incrementos de 10 mV, cada variación se adiciona al voltaje de mantenimiento que fue colocado en -80 mV. Las células se impregnaron con

solución externa para corrientes totales, de esta manera se inhibe el efecto agudo que podría favorecerse por LEP en las corrientes iónicas. Se aprecia un incremento en las corrientes entrantes con cada paso despolarizante; así mismo, las corrientes salientes que son conducidas por canales de potasio también se observan aumentos en su amplitud. Para optimizar el análisis de las corrientes, se midió el pico de corriente en cada uno de los pasos despolarizantes, el promedio \pm el error estándar de la media es mostrado en la relación corriente voltaje que se presenta en la Figura 2 panel B. Por último, se decidió hacer un resumen de las corrientes iónicas en un paso de voltaje en el que se muestra el nivel máximo registrado: -10 mV para las corrientes entrantes y de +40 mV para las salientes, en la Figura 2, panel C, se aprecia dicho análisis, en donde se observa que LEP aumenta tanto las corrientes entrantes como las salientes.

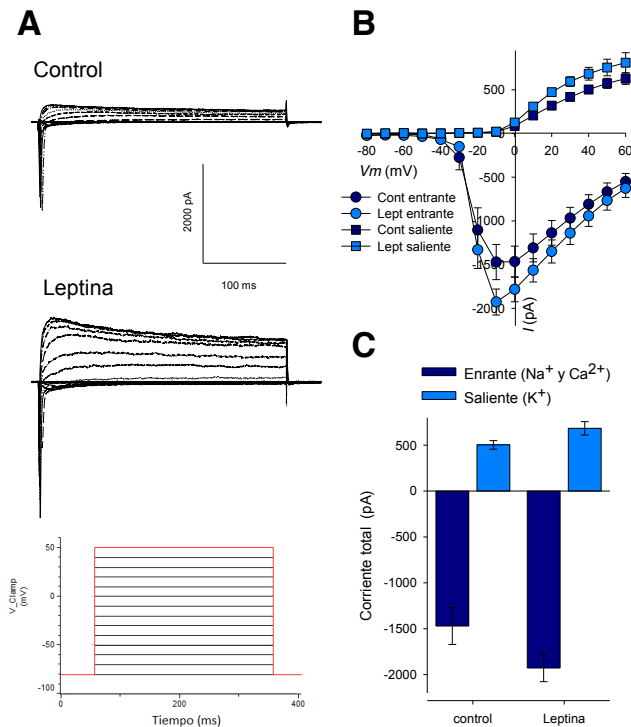


Figura 2. Efecto del tratamiento crónico (72 hrs) con leptina (10nM) sobre las corrientes totales en células N1E-115. **A.** Familia de trazos de corrientes totales evocadas por pulsos despolarizantes de amplitud de 10 mV con una duración de 300 ms (panel inferior); se muestra el trazo control y el trazo tratado con leptina. **B.** Relación corriente voltaje (I-V) de la medición al pico de la corriente evocada por cada pulso despolarizante medida en los primeros 50 ms (o, entrante) y medida en los últimos 50 ms previos al finalizar el trazo de la corriente (□, saliente). **C.** Resumen del análisis de la corriente máxima evocada en -10 mV para las corrientes entrantes y a +40 mV para las corrientes salientes (control n= 23, leptina n = 22).

Las corrientes entrantes son el producto del flujo de la corriente en los canales de sodio (Na_v) y de calcio (Ca_v), debido al incremento observado en la amplitud de las corrientes entrantes se procedió a disecar sus componentes en corriente de sodio y corriente de calcio. Para bloquear el componente de sodio y solo observar el componente de calcio, se adicionó tetrodotoxina (TTX) a una concentración de 1-2 μ M en la solución externa de registro. Las células exhiben una corriente de calcio de rápida activación y rápida inactivación, similares a lo reportado por otros autores para corrientes de bajo umbral de activación denominadas LVA por sus siglas en inglés (*low voltage activation*); se utilizó (Ba²⁺) bario como acarreador de carga. El tratamiento crónico con LEP (10nM) disminuye la corriente de calcio que pasa a través de los canales LVA, se puede apreciar dicho análisis en la Figura 3 panel A. Para conseguir un mejor análisis de las corrientes de calcio, se

propuso analizar el pico de la corriente a cada paso despolarizante en función del voltaje aplicado a la célula, la relación corriente voltaje (I-V) se parecía en el panel B de la Figura 3; se observa una reducción significativa ($p < 0.05$) de la corriente de calcio a cada paso de voltaje. Por último, un resumen del análisis de dichas corrientes se observa en el panel C de la Figura 3, se tomó el máximo de la corriente iónica evocada por el pulso despolarizante a -10 mV, voltaje en el cual se aprecia la cantidad máxima de corriente que las células muestran.

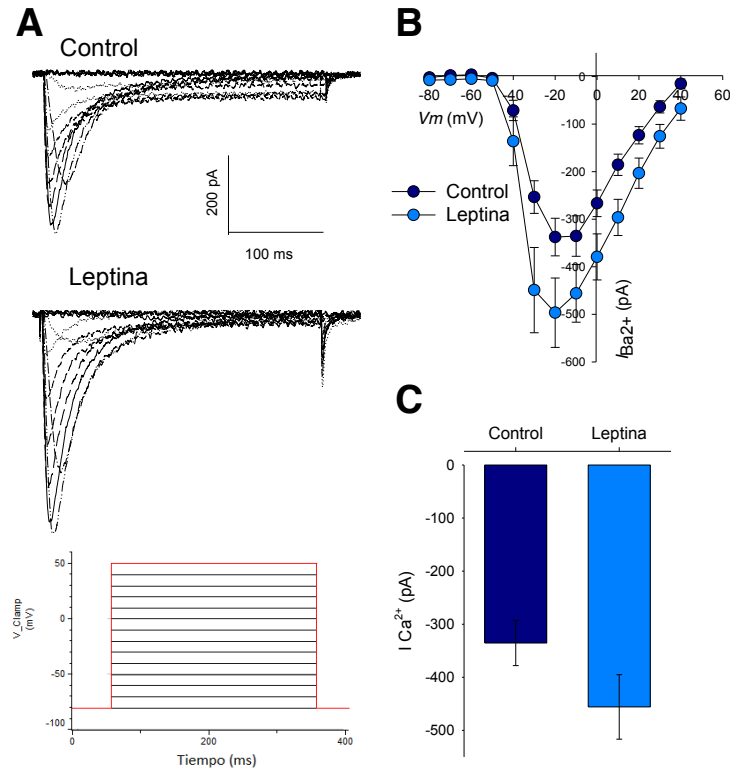


Figura 3. Efecto de la exposición durante 72 hrs a leptina (10 nM) sobre las corrientes de calcio. **A.** familia de trazos de la corriente de calcio de 200 ms de duración utilizando Bario como acarreador de carga; evocadas por pulsos despolarizantes de amplitud variada partiendo de un voltaje de mantenimiento de -80 mV con incrementos de 10 mV mismo que se suman al potencial de mantenimiento; el protocolo se encuentra en el panel inferior. **B.** Relación corriente-voltaje en la que se presenta el pico de la corriente a cada paso despolarizante medido en los primeros 20 ms. **C.** Resumen del análisis de corriente de calcio evocada en el pulso a -10 mV, pulso de voltaje en el que se aprecia el máximo de la corriente (control $n = 10$, Leptina $n = 13$)

La corriente de sodio es otro de los componentes de la corriente entrante, debido al incremento observado en las células, se decidió analizar dicho componente, para bloquear el componente de calcio se añadió Cadmio (Cd^{2+}) a la solución externa de registro. Las células estimuladas durante 72 hrs con leptina (10 nM) presentan incremento significativo en el componente de la corriente Na^+ (Figura 4). Existen dos componentes de la corriente de sodio reportados por diversos autores (uno sensible a TTX y otro no sensible) en estas células con el uso de TTX a una concentración de $1-2$ μ M se bloquea toda la corriente de sodio por lo que no hay componente no sensible a TTX.

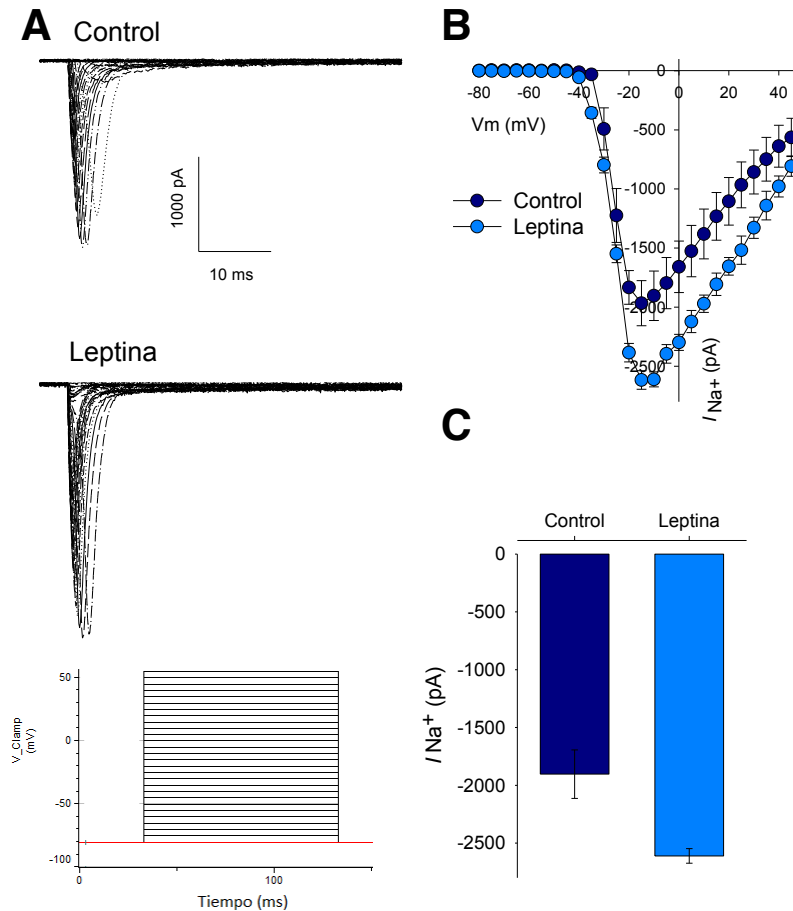


Figura 4. Efecto del tratamiento LEP (10nM/72hrs) sobre la corriente de sodio. **A.** Familia de trazos de la corriente de sodio evocadas por pulsos despolarizantes de amplitud variada partiendo de un potencial de mantenimiento de -80 mV en pasos de 10 mV con longitud de 50 ms; el protocolo se aprecia en el panel inferior izquierdo. **B.** Relación corriente voltaje de la amplitud de la corriente evocada por pulsos despolarizantes medida en los primeros 5 ms del trazo. **C.** Resumen de la corriente Na⁺ en paso de voltaje a -10 mV en donde se manifiesta el valor máximo de la corriente.

CONCLUSIONES

El tratamiento crónico (72 horas) con LEP (10 nM) aumenta las corrientes entrantes y salientes en las células N1E-115.

El componente de la corriente de Calcio aumentó ~0.5 veces en las células tratadas con LEP.

El componente de sodio de la corriente entrante incrementó ~ 0.8 veces en las células estimuladas con LEP.

BIBLIOGRAFÍA

1. T. Amano, E. Richelson, M. Nirenberg. "Neurotransmitter synthesis by neuroblastoma clones". *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol. 69(1), 1972, pp. 258-263.
2. N. Balthasar, R. Coppari, J. McMinn, S.M. Liu, C.E. Lee, V. Tang, B.B. Lowell. "Leptin receptor signaling in POMC neurons is required for normal body weight homeostasis". *Neuron*, Vol. 42(6), 2004, pp. 983-991.
3. W.A., Catterall. "Structure and function of voltage-gated ion channels". *Annual review of biochemistry*, Vol. 64(1), 1995, pp. 493-531.

4. W.A. Catterall. "Ion channel voltage sensors: structure, function, and pathophysiology". *Neuron*, Vol.67(6), 2010, pp. 915-928.
5. F.A. Edwards, A. Konnerth, B. Sakmann, T. Takahashi. "A thin slice preparation for patch clamp recordings from neurones of the mammalian central nervous system". *Pflügers Arch*, Vol. 414, 1989, pp. 600-12.
6. O.P. Hamill O., A. Marty, E. Neher, B.Sakmann, F.J. Sigworth 1981. "Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches". *Pflügers Arch*, Vol. 391, 1881, pp. 85–100.
7. B. Hille. "Ionic channels of excitable membranes". 2001. Sunderland, MA: Sinauer Associates.
8. Y. Kimhi, C. Palfrey, I. Spector, Y. Barak, U. Z. Littauer. "Maturation of neuroblastoma cells in the presence of dimethylsulfoxide". *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol. 73(2), 1972, pp. 462-466.
9. T. Kreis, "Speckle Metrology," in *Holographic Interferometry* (Akademie Verlag Inc., New York, NY, 1996), Chapter 4, pp. 125-149.
10. P. Kristensen, M.E.Judge, L. Thim, U. Ribel, K.N. Christjansen, B. S. Wulff, J.T. Clausen, P.B. Jensen, O.D. Madsen, N. Vrang, P.J. Larsen, S. Hastrup. "Hypothalamic CART is a new anorectic peptide regulated by leptin". *Nature*, Vol. 393, 1998, pp. 72-76.
11. W.H. Moolenaar, I. Spector. "Ionic currents in cultured mouse neuroblastoma cells under voltage-clamp conditions". *J. Physiol.*, 278, 1978, pp. 265-286.
12. J.D. Roth, D.K. Yee, L. R. Kisley, S.J. Fluharty. "Modeling the pathways of energy balance using the N1E-115 murine neuroblastoma cell line". *Molecular brain research*, Vol. 103(1), 2002, pp. 146-150.
13. B. Sakmann, E. Neher. "Single Channel Recording. Plenum Press", New York. 1995.
14. D. Schubert, S. Humphreys, C. Baroni, M. Cohn. "In vitro differentiation of a mouse neuroblastoma". *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol. 64(1),1969, pp 316-323.
15. L.A. Tartaglia, M. Dembski, X. Weng, N. Deng, J. Culpepper, R. Devos, G.J. Richards, L.A. Campfield, F.T. Clark, J. Deeds. "Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R". *Cell* Vol. 83, 1995, pp.1263–1271.
16. L. Thim, P. Kristensen, P.J. Larsen, B.S. Wulff. "CART, a new anorectic peptide". *The international journal of biochemistry & cell biology*, Vol. 30(12), 1998, pp.1281-1284.
17. J.H Wang, F. Wang, M. J. Yang, D.F. Yu, W.N. Wu, J. Liu, J.G Chen. "Leptin regulated calcium channels of neuropeptide Y and proopiomelanocortin neurons by activation of different signal pathways". *Neuroscience*, Vol.156(1), 2008, pp. 89-98.
18. Y. Zhang, R. Proenca, M. Maffel, M. Barone, L. Leopold, J. M. Friedman. "Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue". *Nature*, Vol. 372, 1994, pp. 425-432.

ANÁLISIS MICOQUÍMICO Y POTENCIAL TERAPÉUTICO DE *PLEUROTUS OSTREATUS*

Jhenifer Daniela Carrillo Lara, Rubén Octavio Méndez Márquez, Patrocinio del Pilar Miranda Delgado, Rosalinda Gutiérrez Hernández, Claudia Araceli Reyes Estrada.

Universidad Autónoma de Zacatecas "Francisco García Salinas".

RESUMEN

Los hongos comestibles pueden ser una alternativa terapéutica para infecciones causadas por bacterias, debido a sus propiedades farmacológicas reportadas; un ejemplo de éstos son los basidiomicetos que han demostrado ser relevantes en la producción de metabolitos secundarios. Nuestro objetivo fue determinar la actividad antibacteriana de extractos de *Pleurotus ostreatus*. Se obtuvieron tres extractos mediante el uso de: Metanol (M), Cloroformo (C) y Agua (A); mezclando en diferentes proporciones: Extracto 1) 3(A):1(M):1(C), Extracto 2) 2(M):2(C):1(A), y Extracto 3) A, mediante un procedimiento a base de secado y macerado, posteriormente se realizaron pruebas colorimétricas para la identificación de metabolitos secundarios. El análisis micoquímico evidenció para el extracto acuoso la presencia de alcaloides, azúcares reductores, flavonoides, quinonas y saponinas; para el extracto 1 se evidenciaron alcaloides, azúcares reductores, cumarinas, flavonoides, glucósidos cardiacos y quinonas; y para el extracto 2 sólo se identificó la presencia de alcaloides. La actividad antibacteriana se evaluó mediante difusión en placa por medio del método de Kirby-Bauer.

INTRODUCCIÓN

La amplia resistencia bacteriana es un fenómeno que tiene por característica la ineficacia del tratamiento farmacológico contra el microorganismo, generada principalmente por el uso inapropiado de antibióticos (Fuentes, 1993).

En la actualidad, la Organización Mundial de la Salud, reporta al menos 12 familias de bacterias que han sido catalogadas como multiresistentes, entre las señaladas se incluyen Gram negativas como *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, y Gram positivas como *Staphylococcus aureus* (OMS, 2017).

Los hongos macromicetos comestibles han demostrado ser un alimento con alto valor nutricional, lo que les confiere importantes aplicaciones medicinales (Valencia del Toro *et al.*, 2008; Cohen R. *et al.*, 2002), una aplicación relevante es la actividad antibacteriana, que se le atribuye a la producción de compuestos orgánicos llamados metabolitos secundarios, que tienen funciones de mecanismo de defensa contra plagas y enfermedades y pueden ser una alternativa para la obtención de nuevos biofármacos (Valencia del Toro *et al.*, 2012).

En la actualidad, las especies de *Pleurotus* han demostrado tener un importante potencial farmacológico, por ejemplo: efecto antimicrobiano, antiviral e hipoglucemiante, además de participar en procesos de la modulación del sistema inmune, prevención de la hipertensión arterial y procesos inflamatorios (Gregori *et al.*, 2007).

TEORÍA

Enfermedades bacterianas

El organismo humano mantiene una relación estable con diversos microorganismos, lo cual constituye la microbiota normal, esto debido a que se encuentran adaptados. La microbiota normal habita en superficies externas como la piel y superficies internas, por ejemplo el tracto intestinal (Ingraham, 1998). La microbiota es indispensable para el correcto crecimiento corporal, el desarrollo de la inmunidad y la nutrición (Icaza, 2013).

La homeostasis del organismo humano tiene como finalidad mantener la salud a través de respuestas adaptativas, sin embargo cuando se genera un desequilibrio homeostático, ya sea por carácter intrínseco o extrínseco, el organismo se ve afectado por enfermedades (Hardy, 1979), sin embargo algunos de los desencadenantes pueden ser diferentes agentes etiológicos, ya sea por virus, hongos, parásitos o bacterias.

En particular las Bacterias son microorganismos con características que las diferencian de otros organismos celulares, son extremadamente pequeñas, en su mayoría presentan diámetros que van

desde los 0.5 a 1.0 μm , se caracterizan por su fácil crecimiento y reproducción, ya que utilizan los nutrimentos del ambiente en el que se localicen (García, 2004).

Farmacología antimicrobiana

Las enfermedades infecciosas causadas por bacterias son tratadas con una serie de medicamentos llamados antibióticos, sustancias químicas que tiene diferentes orígenes, el natural o biológico: obtenidos de cultivos de microorganismos como bacterias u hongos; y el semisintético: a partir de un núcleo básico de agentes obtenidos de formas naturales, con modificaciones químicas para mejoras de actividad, espectro de acción, disminución de efectos adversos, etc. (Pardes, *et al.*, 2004).

La penicilina fue descubierta por Alexander Fleming en 1928, al estudiar cultivos de bacterias que presentaban estados de lisis, debido a la contaminación de un hongo filamentoso llamado *Penicillium notatum*, resultando uno de los principales antibióticos en la historia (Lozano, 1998).

Resistencia bacteriana en México

La resistencia bacteriana es un fenómeno que tiene por característica una refractariedad parcial o total de los microorganismos al efecto del antibiótico, generado principalmente por usos inapropiados (Fuentes, 1993).

La multiresistencia representa un reto terapéutico que deja pocas posibilidades para el tratamiento de estas infecciones, ya que los mecanismos que utilizan las bacterias para defenderse de los antibióticos están en constante evolución (Tafur, 2008).

La resistencia antimicrobiana en países como México resulta alarmante, algunos de los factores que deben ser considerados para abordar ésta problemática son, la ausencia de cuerpos regulatorios que controlen eficazmente el uso y la venta de antimicrobianos y la automedicación (SSA-INSP, 2015). Algunas de las bacterias con farmacoresistencia que se han reportado en México se muestran en las tablas 1 y 2 al igual que los medicamentos hasta el momento evaluados.

Tabla 1. Resistencia antibiótica de bacterias Gram Negativas presentes en México.

BACTERIA	RESISTENCIA	REFERENCIA
<i>Escherichia coli</i>	Colistina Novobiocina Doxiciclina	(Sánchez <i>et al.</i> 2014)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Amikacina Ciprofloxacino Gentamicina	(Ortiz <i>et al.</i> 2007)

Tabla 2. Resistencia antibiótica de bacterias Gram Positivas presentes en México.

BACTERIA	RESISTENCIA	REFERENCIA
<i>Staphylococcus aureus</i>	Meticiclina Eritromicina Ciprofloxacino	(Miranda, 2011) (Velázquez-Guadarrama <i>et al.</i> 2010)

Productos naturales y su potencial uso antimicrobiano

La integración del uso de productos naturales en la terapéutica tiene no solo una base histórica, sino que ambas comparten una base química, radicada en la estructura de los principios activos, independientemente de que sean de origen natural o sintético. Una cantidad importante de fármacos empleados actualmente en la terapéutica de las enfermedades deriva de productos naturales de manera directa o indirectamente, ya que muchos de los principios activos fueron aislados de las plantas para posteriormente ser sintetizados en laboratorio. Se han estudiado diversos tipos de compuestos que a partir de diversos mecanismos de acción realizan su efecto terapéutico.

Esta gran variedad de compuestos producidos en la naturaleza se ve reflejada en cerca de 23,000 metabolitos secundarios microbianos conocidos, el 42% los producen hongos, 32% actinomicetos y el resto son producidos por bacterias (Lazzarini *et al.*, 2000).

Estudios recientes demuestran que el género *Pleurotus* encierra especies comestibles de elevado valor nutricional, destacadas por sus propiedades medicinales (Morris, 2012).

En la actualidad, el género *Pleurotus* ha confirmado tener un importante potencial farmacológico, por ejemplo: efectos antioxidantes, antivirales, antimicrobiano, participación en la modulación del sistema inmune y actividad hipoglucemiante, entre otras (Gregori *et al.*, 2007).

Los hongos macromicetos han demostrado tener producción de una amplia gama de productos naturales, mismos que le confieren las propiedades medicinales (Valencia del Toro, 2012). Algunos de los compuestos bioactivos con propiedades antibióticas reportadas a partir de *Pleurotus* spp. según estudios realizados por Cohen y colaboradores en 2002, son los polisacáridos y para *Pleurotus ostreatus* con actividad antioxidante se ha reportado compuestos fenólicos, flavonoides y β -carotenos (Robaszkiewicz *et al.*, 2010).

PARTE EXPERIMENTAL

Obtención de esporomas de Pleurotus ostreatus

Se realizó la siembra y cosecha de setas, con base en la metodología planteada por Gaitán Hernández y colaboradores en el "Manual Práctico de cultivo de setas: aislamiento, siembra y producción" en 2006.

Obtención del extracto de Pleurotus ostreatus

Cosechados los esporomas se realizó la identificación taxonómica para la corroboración de la especie y se llevó a cabo el secado en estufa Felisa II a 70°C, posteriormente se pulverizó la muestra y se sometió a proceso de maceración. Se establecieron condiciones experimentales para la obtención de tres extractos, utilizando solventes de diferente naturaleza, agua destilada (A), metanol (M) y cloroformo (C), en los que se usaron las siguientes proporciones:

Extracto no. 1= 3(A):1(C):1(M), Extracto no. 2= 2(M):2(C):1(A) y Extracto no. 3= Acuoso.

Manejo de los extractos naturales

Obtenidos los extractos de *Pleurotus ostreatus*, se partió de las concentraciones madre para la preparación de diluciones seriadas (Tabla 3).

Tabla 3. Diluciones realizadas a diferentes extractos. A: Agua, M: Metanol, C: Cloroformo.

Extracto	Concentración Inicial (mg/ml)	Diluciones (mg/ml)			
		1	2	3	4
3(A):1(C):1(M)	98.75	49.375	24.68	12.34	6.17
2(A):2(C):1(M)	98.75	49.375	24.68	12.34	6.17
A	23.33	11.66	5.83	--	--

Análisis Micoquímico

Se sometieron las muestras de extracto obtenidas a una serie de reacciones colorimétricas, para identificar la presencia de alcaloides, azúcares reductores, cumarinas, flavonoides, glucósidos cardíacos, glucósidos cianógenos, quinonas, saponinas, taninos y sesquiterpenlactonas.

Pruebas de Susceptibilidad

Material biológico: Se usaron cepas de referencia ATCC, correspondientes a las bacterias Gram Negativas como *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, y Gram Positivas como *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Vaciado en placa y extendido: Se tomó con un asa calibrada previamente esterilizada, muestra de cada bacteria a evaluar, y cada una se inoculó en un tubo con agar para Métodos Estándar, se incubaron por 24 horas. Posteriormente en 4 tubos con tres mililitros de agua inyectable se le agregó muestra de los microorganismos para ser ajustados al 0.5 de concentración en escala de McFarland (1.5×10^8 células por mL³) paso que se repitió en cada bacteria para la obtención de la misma concentración celular; a partir de ésta última preparación se tomó con un hisopo estéril y se inoculó por estría masiva en cajas de Petri con agar Mueller Hinton, a las cuales se les agregaron sensidiscos impregnados de las concentraciones de extracto realizadas y una caja control con diferentes

antibióticos. Se incubaron por 24 horas y se observaron para identificar la presencia de halos de inhibición.

Escala Nefelométrica McFarland: Los patrones de 0.5 de McFarland fueron utilizados para la preparación de los inóculos bacterianos, para las pruebas de sensibilidad antimicrobiana, se preparó la muestra y se observó el cambio de turbidez, en seguida se realizaron lecturas a 625 nm en Jenway 6715 uv/vis Spectrophotometer, de esa manera se inoculó en cada paso la misma concentración celular.

RESULTADOS

Obtención de esporomas de Pleurotus ostreatus

Para la obtención de los cuerpos fructíferos de *Pleurotus ostreatus* se recolectaron los hongos de la primera cosecha, los cuales fueron procesados posteriormente (Figura 1).



Figura 1. Esporomas de *Pleurotus ostreatus*. A y B. hongo en fresco; C. hongo deshidratado.

El análisis taxonómico evidenció las siguientes características: basidiomas clitociboides o pleurotoides, estipitados. Píleo de 50 a 150 mm de diámetro aunque puede alcanzar dimensiones mucho mayores, infundibuliforme, circular o semicircular, higrófono con superficie húmeda, blanca, blanquecina a color crema, blanco grisáceo o de color café grisáceo a veces con reflejos azulados. Margen delgado y enrollado del mismo color que el píleo, a veces más amarillento al envejecer. Láminas blancas en un principio pasando a crema al madurar, éstas son muy decurrentes, muy juntas y con lamélulas. Estípite de 30 a 120 mm aunque puede alcanzar dimensiones mucho mayores dependiendo de cuestiones del ambiente, lateral, en su mayoría excéntrico aunque puede ser central. Contexto de color blanco con algunos tonos crema cuando se moja, correosa y algo dura en la parte del estípite. Olor y sabor fúngicos, a veces algo dulce.

Basidiosporas de (7-) 8 -9 (-10) de largo x (2.5-) 3 – 4 (-5) de ancho en μm , hialinas y lisas, puede llegar a observar material orgánico. Basidios (30.48-) 35.56 x 43.18 (-45.72) tetraspóricos, claviformes y largos. Cistidios no observados. Cutícula con presencia de fíbulas.

Reacción inamiloide con Melzer y con KOH al 5% no presenta cambios significantes.

Análisis Micoquímico

El análisis micoquímico evidenció para el extracto acuoso la presencia de compuestos alcaloides, azúcares reductores, flavonoides, quinonas y saponinas; para el extracto 3(A):1(M):1(C) se evidenciaron alcaloides, azúcares reductores, cumarinas, flavonoides, glucósidos cardiacos y quinonas, y por último para el extracto en proporción 2(M):2(C):1(A) sólo se identificó la presencia de alcaloides, como se muestra en la tabla 4.

Tabla 4. Resultados del análisis micoquímico.

Micompuesto (Reactivo)	Resultados		
	3:1:1	2:2:1	Acuoso
Alcaloides (Mayer/Wagner)	+	+	+
Azúcares Reductores (Fehling/Benedict)	+	-	+
Cumarinas (Erlich/NH ₄ OH)	+	-	-
Flavonoides (Shinona/NaOH)	+	-	+
Glucósidos Cardiacos (Baljet)	+	-	-
Glucósidos Cianógenos (HCl/Grignard)	-	-	-
Quinonas (NH ₄ OH/H ₂ SO ₄ /Borntrauger)	+	-	+
Saponinas (H ₂ O/Rosenthaler)	-	-	+
Sesquiterpenlactonas (NH ₂ OH•HCl)	-	-	-
Taninos (Gelatina)	-	-	-

Pruebas de Susceptibilidad

Una vez obtenidos los resultados del análisis micoquímico de los extractos, se realizaron las pruebas de susceptibilidad en cada una de las cepas bacterianas. Las pruebas en cajas control, muestran que *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* presentan resistencia a Penicilina y Ampicilina, sin embargo para *Staphylococcus epidermidis* se observó resistencia a Oxiclina, y para *Staphylococcus aureus* solamente hay sensibilidad a Imipenem, como se pueden observar en la tabla 5.

Los antibiogramas que se realizaron con las diversas concentraciones de cada extracto, muestran halos de inhibición de diámetros con un rango de 0.6 a 0.8 cm, o la ausencia total de inhibición bacteriana, como se muestra en la tabla 6 y 7.

Tabla 5. Antibiogramas control para bacterias Gram Negativas y Gram Positivas.

S= Susceptibilidad, R=Resistencia.


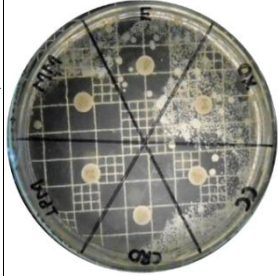
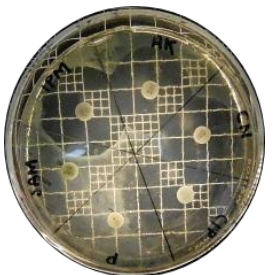
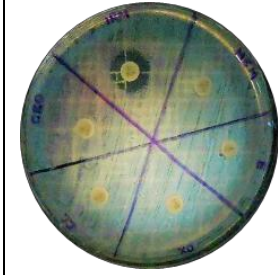
Gram Negativas	Evidencia fotográfica	Gram Positivas	Evidencia fotográfica
<i>Escherichia coli</i> Amikacina (AK) Gentamicina (CN) Ciprofloxacino (CIP) Penicilina (P) Ampicilina (SAM) Imipenem (IPM)		<i>Staphylococcus epidermidis</i> Oxiclina (OX) Clindamicina (CC) Ceftriaxona (CR) Imipenem (IPM) Meropenem (MEM) Eritromicina (E)	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Amikacina (AK) Gentamicina (CN) Ciprofloxacino (CIP) Penicilina (P) Ampicilina (SAM) Imipenem (IPM)		<i>Staphylococcus aureus</i> Oxiclina (OX) Clindamicina (CC) Ceftriaxona (CR) Imipenem (IPM) Meropenem (MEM) Eritromicina (E)	

Tabla 6. Antibiogramas para bacterias Gram Negativas.

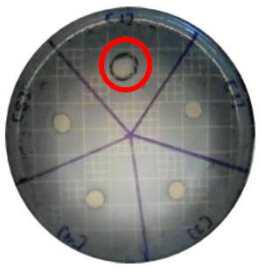
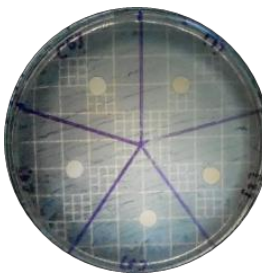
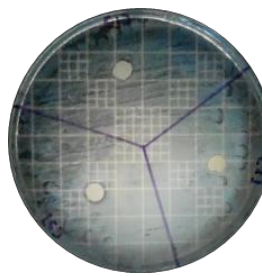
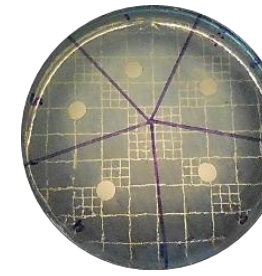
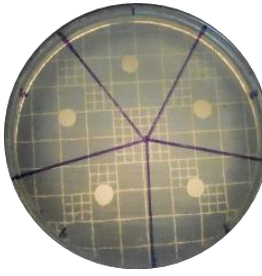
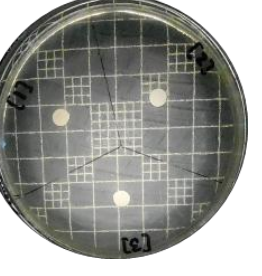
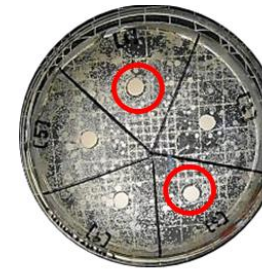

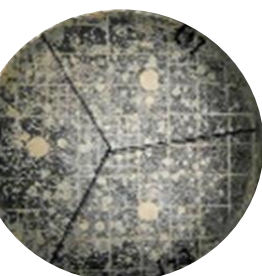
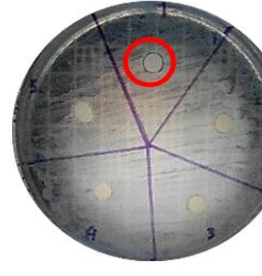
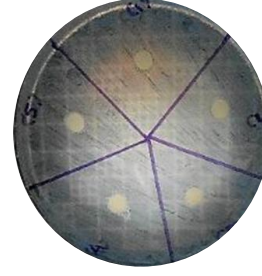
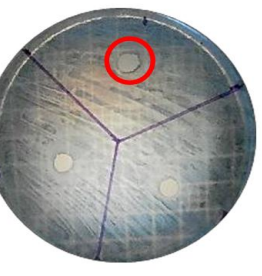
Gram Negativas	Extracto 3:1:1	Extracto 2:2:1	Extracto Acuoso
<p><i>Escherichia coli</i></p> <p>Se observa halo de inhibición sólo para extracto 3:1:1 en concentración 1= [98.75 mg/mL]. Para extracto 2:2:1 y acuoso, se puede observar resistencia bacteriana.</p>			
<p><i>Pseudomonas aeruginosa</i></p> <p>Se puede observar que a cada concentración de extracto utilizado, se presenta resistencia bacteriana.</p>			

Tabla 7. Antibiogramas para bacterias Gram Positivas.

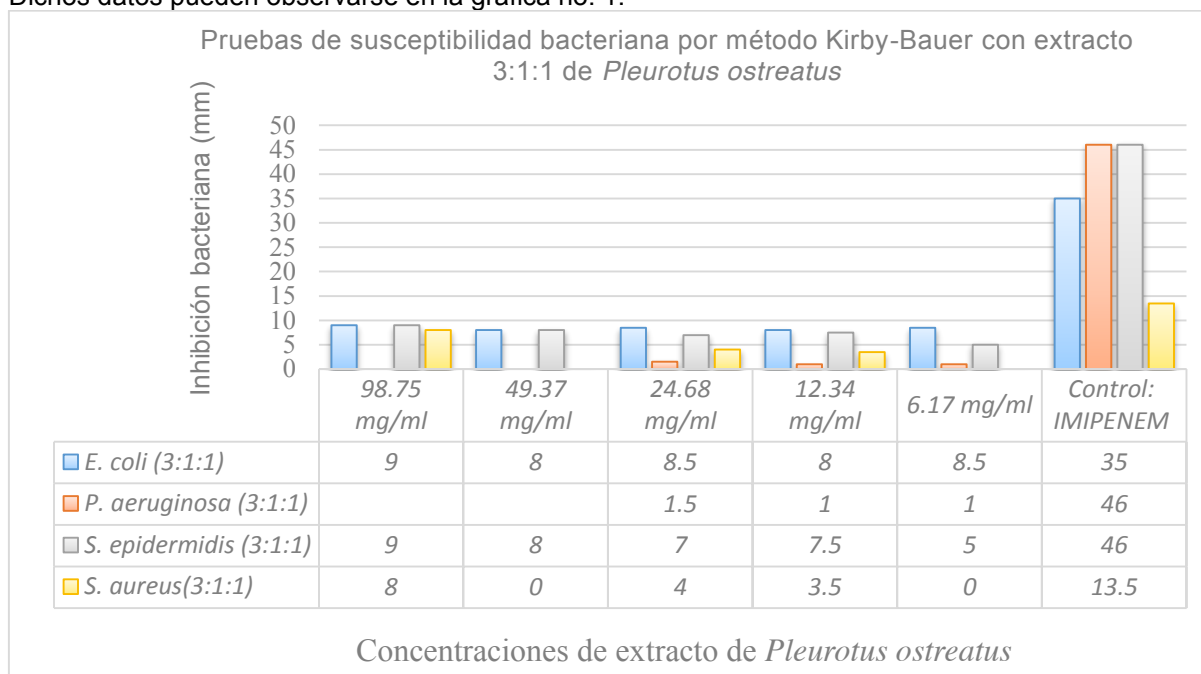
Gram Positivas	Extracto 3:1:1	Extracto 2:2:1	Extracto Acuoso
<p><i>Staphylococcus epidermidis</i></p> <p>Se aprecian halos de inhibición con la concentración 1= [98.75 mg/mL] y 3= [24.68mg/mL] para extracto 3:1:1, sin embargo para extracto 2:2:1 y acuoso se presenta resistencia bacteriana.</p>			
<p><i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>Se aprecia que a las concentraciones 1= [98.75 mg/mL] de extracto 3:1:1 y 1= [23.33 mg/mL] de extracto acuoso se presentan halos de inhibición. Para extracto 2:2:1 no se observa actividad.</p>			

Análisis comparativo de extractos usados en pruebas de susceptibilidad

En los resultados obtenidos para las pruebas control de susceptibilidad, el antibiótico con mayor alcance antibacteriano es el Imipenem, mostrando mayor inhibición en la bacteria *P. aeruginosa* y *S. epidermidis*, seguidas de *E. coli* y por último *S. aureus*.

Extracto 3:1:1

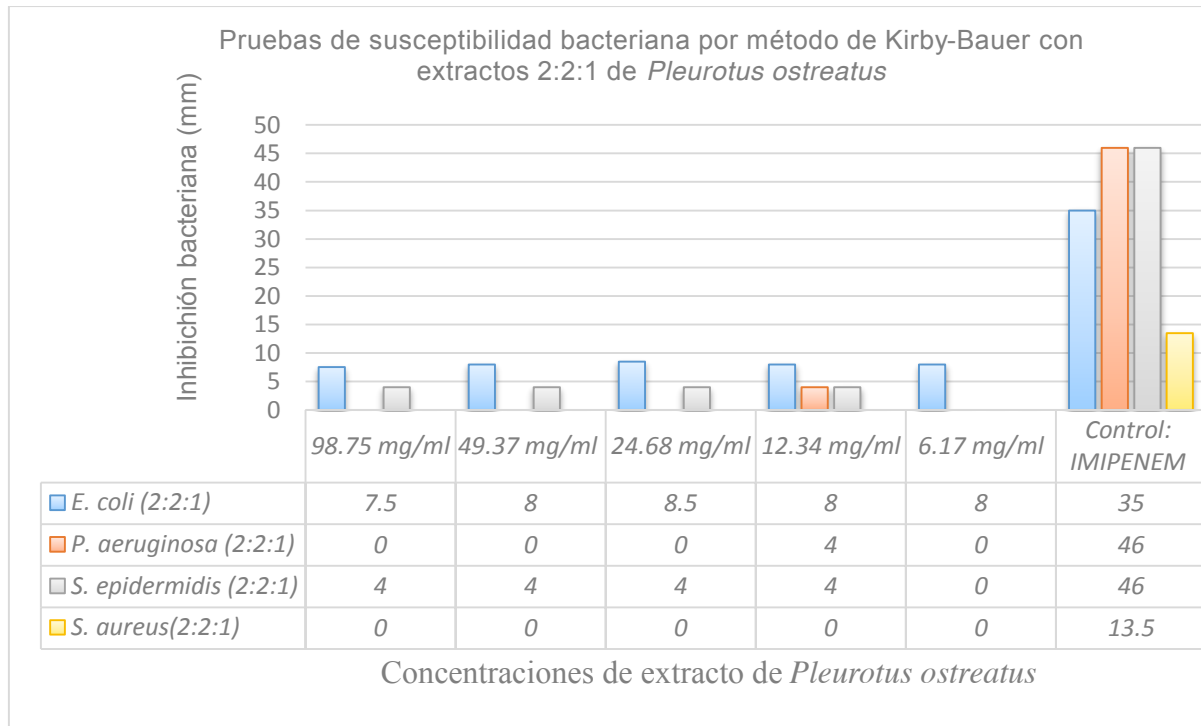
- Las bacterias con mayor susceptibilidad al extracto 3:1:1 fueron *E. coli*, y *S. epidermidis* a todas las concentraciones utilizadas.
 - Para *S. aureus*, sólo se observó inhibición a 3 de las concentraciones utilizadas.
 - Para *P. aeruginosa*, se observa inhibición bacteriana de menor mm.
- Dichos datos pueden observarse en la gráfica no. 1.



Gráfica 1. Análisis comparativo para extracto 3:1:1 con cepas bacterianas de referencia.

Extracto 2:2:1

- Para *E. coli* la concentración con mayor actividad es 24.68 mg/ml, con 8.5 mm de inhibición.
 - *S. epidermidis* tuvo un comportamiento similar para todas las concentraciones usadas.
- Como se puede observar en la gráfica 2.

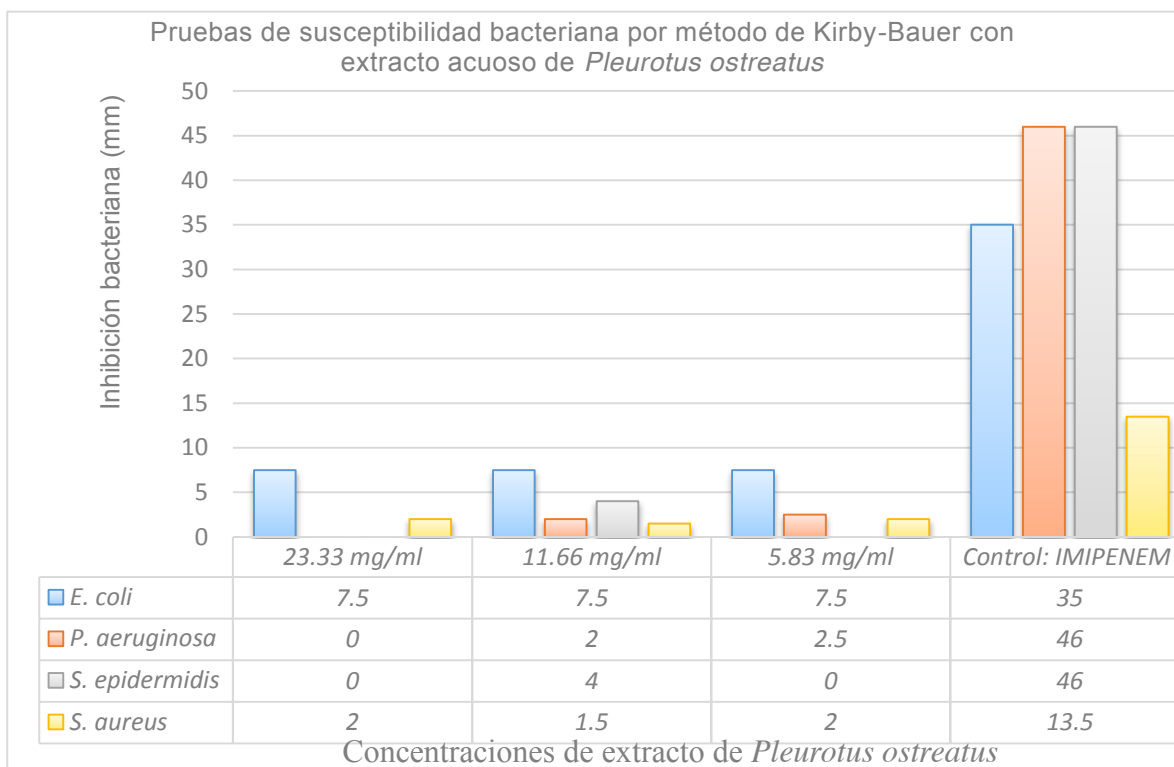


Gráfica 2. Análisis comparativo para extracto 2:2:1 con cepas bacterianas de referencia.

Extracto Acuoso:

- Se muestra actividad similar para *E. coli* a todas las concentraciones.
- *S. aureus* muestra inhibición bacteriana a las 3 concentraciones usadas.
- *P. aeruginosa*, muestra inhibición a dos concentraciones y *S. epidermidis* a una.

Como se puede observar en la gráfica 3.



Gráfica 3. Análisis comparativo para extracto acuoso con cepas bacterianas de referencia.

CONCLUSIONES

De acuerdo al análisis micoquímico, la presencia de compuestos bioactivos como los alcaloides y flavonoides favorece sus efectos antibacterianos.

Las pruebas de susceptibilidad muestran halos de inhibición bacteriana de diversas magnitudes, demostrando que no hay crecimiento del microorganismo, de ésta manera se comprueba el potencial antibacteriano de los extractos de *Pleurotus ostreatus*.

Es fundamental dar continuidad a esta clase de estudios para contar con un mayor conocimiento sobre los principios activos que puedan estar presentes en hongos basidiomicetos y su posible utilización en el campo de la nutrición y la farmacología principalmente.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Gregori, M. Svagel, J. Pohleven. "Cultivation techniques and medicinal properties of *Pleurotus spp*". Food technol. Biotechnol. 45: 2007. pp 238-249.
2. A. Gutiérrez, A. Estéves. "Relevancia de los productos naturales en el descubrimiento de nuevos fármacos en el S. XXI". Rev. Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Vol. 103, 2, 2009. pp 409-419.
3. A. Lazzarini , L. Cavaletti , G. Toppo, F. Marinelli. "Rare potential producers of new antibiotics". Antonie Van Leeuwenhoek. Vol. 78, 2000. pp 399-405.
4. A. Ortiz Camacho, G. R. Acosta Beltrán, F. H. Rositas Noriega, J. L. Canizalez Oviedo. "Resistencia antimicrobiana de *Pseudomonas aeruginosa* en un Hospital de enseñanza del norte de México". ENF INF MICROBIOL. Vol. 27,2, 2007. pp 44-48.
5. A. Robaszekiewicz, G. Bartosz, M. Lawrynowicz and Soszynski. "The role of Polyphenols, β -carotene and Lycopene in the antioxidative action of the extracts of dried edible mushrooms". J Nutr Metab. 2010. pp 1-9.

6. A.R. Sánchez, M. Del Pilar Castañeda y C.R. Cortés. "Resistencia Antimicrobiana de *E. coli* en México". 2014. En: El sitio Avícola. [En línea] 6 de Febrero del 2014, México [consulta del 10 de Abril del 2017] Disponible en:<http://www.elsitioavicola.com/articulos/2517/resistencia-antimicrobiana-de-e-coli-en-maxico/>
7. C. J. Ingraham. "Los microorganismos y la salud humana". En Introducción a la microbiología. México: Reverté, S.A. 1998. pp. 331-350.
8. D. Lozano, H. Larrondo, M. L. Herrera, E. Rivero, R. Zamora, L. J. Araújo. "Penicilinas". Acta médica. Vol. 8, 1. 1998, 28-39.
9. F. Pardes. J.J. Roca. "Acción de los antibióticos, perspectiva de la medicación antimicrobiana". Ámbito farmacéutico OFFARM: Vol. 6, 3, 2004. pp 116-124.
10. G. Valencia del Toro, M. E. Garín Aguilar, M.A. Tellez Jaimes, E. Durán Paramo. "Actividad antibacteriana de extractos hexánicos de cepas de *Pleurotus djamo*". Rev. Mex. Mic vol.28 2008.
11. G. Valencia del Toro, M.E. Garín Aguilar, A. Cuadros Moreno, L. Aguilar Doroteo, E. Durán Páramo. "Actividad antibacteriana de extractos de cepas híbridas y parentales de *Pleurotus spp*". En: Hongos comestible y medicinales en Iberoamérica. 1ª ed. José Sánchez-Gerardo Mata editores. México. 2012.
12. H.J. Morris Quevedo, G. Llaurodo Maury, Y. Lebeque Pérez, R. Fontaine Álvarez, R.C. Bermudez Savón, N. García Odvarado, A. Gutiérrez Muñoz. "Otros usos de los macromicetos: Productos inmunocéuticos derivados del Hongo comestible-medicinal *Pleurotus spp*. Cultivado sobre pulpa de café en Cuba". En: Hongos comestible y medicinales en Iberoamérica. 1ª ed. José Sánchez-Gerardo Mata editores. México. 2012.
13. J. Fuentes. "Resistencia Bacteriana." Iatreia. Vol. 6,1. 1993, pp. 46-50.
14. J. D. Tafur, J. A. Torres, M.V. Villegas. "Mechanisms of antibiotic resistance in Gram negative bacteria". Centro Internacional de Investigaciones Médicas, CIDEIM. Vol. 12, 3. 2008. pp 223-233.
15. M.G. Miranda Novales. "Resistencia Antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* en México". Boletín Médico Del Hospital Infantil en México. Vol. 68, 4, 2011. 262-270.
16. M.E. Icaza-Chávez. "Gut microbiota in health and disease". Revista de Gastroenterología de México, 78, 2013, 240-248.
17. N. Velázquez-Guadarrama, G.J. Viguera, V.G. Escalona, G.J. Arellano, C.S. Giono, F.M. Nava. "Resistencia a Linezolid En *Staphylococcus Aureus* Resistente a Meticilina Y Enterococos con elevada resistencia a aminoglucósidos en un hospital pediátrico de tercer nivel." Boletín médico del Hospital Infantil de México. Vol. 67,1, 2010. pp 19-26.
18. R. Cohen, L. Persky, Y. Hadar. "Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushroom of the genus *Pleurotus*". Applied Microbiol Biotechnol. Vol. 8,1. 2002, 37-45.
19. R. Gaitán-Hernández, D. Salmones, R. Pérez Merlo, G. Mata. "Manual práctico del cultivo de setas. Aislamiento, siembra y producción". Instituto de Ecología, Xalapa, Ver. México. 2006.
20. R.N. Hardy. "Homeostasis", Ed. Omega, colección Cuadernos de biología, Barcelona. 1979.
21. Resistencia Antimicrobiana. En: Instituto Nacional de Salud Pública, [En Línea] 9 de Octubre de 2015. México. [Consulta de 14 de Febrero de 2017]. Disponible en: <https://www.insp.mx/lineas-de-investigacion/medicamentos-en-salud-publica/investigacion/resistencia-antimicrobiana.html>
22. V. García. "Las bacterias". Introducción a la Microbiología. 2ª ed. 2004, pp 41-47.
23. World Health Organisation. "*E. coli*". 2017 En línea, Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>

DISEÑO Y DESARROLLO DE UN SIMULADOR PARA EL ESTUDIO DE LA UNIÓN COOPERATIVA BASADO EN EL MODELO DE HILL

Miguel Pérez Escalera¹, Sheng-li Chilián Herrera¹, Marleni Reyes Monreal¹, Arturo Reyes Lazalde²
y María Eugenia Pérez Bonilla²

¹Escuela de Artes Plásticas y Audiovisuales, ²Facultad de Ciencias Biológicas
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

RESUMEN

Las proteínas transportadoras de oxígeno, como la hemoglobina, evolucionaron a partir de la mioglobina, proteína que cuenta con un solo sitio de unión para el oxígeno. Esta proteína presenta alta afinidad; tanto a valores pequeños de presión parcial de oxígeno (PO₂), como a valores altos. En cambio, la hemoglobina se satura a altas concentraciones de PO₂ y se disocia a bajas concentraciones. Esta característica se debe a la existencia de cuatro sitios de unión del oxígeno, denominado unión cooperativa. En moluscos y algunos artrópodos se encuentra la hemocianina que contiene cobre; en algunos invertebrados se encuentra la hemeritina que contiene hierro. En todos estos casos la unión es cooperativa. Lo mismo sucede en algunos procesos enzimáticos y en la unión de ligandos a proteínas de membrana celular. Se diseñó y desarrolló un simulador interactivo en Visual Basic 6.0 para ambiente Windows®, desde XP a Windows 10. Está basado en la ecuación de Hill. Se implementaron tres programas: (1) Similar-Hill, (2) Saturar y (3) O2HbComparar. Similar-Hill cuenta con un menú principal que da acceso a los simuladores. (a) Saturar-Hill: aborda la velocidad enzimática en función de la concentración de sustrato. (b) Saturar Mioglobina: saturación de la mioglobina (Mb) por O₂. (c) Saturar-Protein: saturación de proteínas transportadoras. El simulador Saturar: satura la hemoglobina (Hb) en función PO₂, se ingresa la PO₂. O2HbComparar: Compara la saturación de Hb por O₂ en varias especies y sus cambios por variación del pH. Con los simuladores el usuario puede estudiar el proceso de unión cooperativa mediante ejemplos enzimáticos y con la saturación de la hemoglobina.

INTRODUCCIÓN

La ecuación de Hill o función de Hill fue introducida por A.V. Hill en 1910 [1], para describir la unión del oxígeno con la hemoglobina (Hb). Posteriormente, su uso se ha ampliado a la bioquímica, fisiología y farmacología. Son muchos los procesos fisiológicos y farmacológicos que siguen una función no lineal que implica la participación de muchas moléculas en una interacción cooperativa. La ecuación de Hill se ha empleado, por ejemplo, en la interacción ligando-receptor en el sistema nervioso central [2], en la función de algunas bombas de membrana, como la bomba SERCA, para ingresar el calcio al retículo sarcoplásmico, y PMCA, para sacarlo de la célula. Su importancia es tal, que se utiliza en modelos matemáticos relacionados con la expresión de genes [3, 4].

1. La ecuación de Hill en las reacciones químicas.

Las enzimas son proteínas que pueden considerarse como catalizadores biológicos y siguen por lo tanto las reglas generales de catálisis. La interacción enzima-sustrato puede visualizarse matemáticamente y de manera general con la función de Hill. Esta ecuación, por ejemplo, implica la interacción de varios ligandos a un receptor (ecuación 1).

$$v = V_{max} \frac{([S]/[S]_{0.5})^h}{1 + ([S]/[S]_{0.5})^h} \quad (1)$$

Donde:

V_{max} es la velocidad máxima de la reacción enzimática cuando $[S] \rightarrow \infty$

$[S]_{0.5}$ es la concentración a la mitad de la saturación

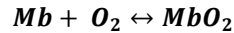
h es el coeficiente de Hill

Cuando $h = 1$, la ecuación se convierte en la clásica ecuación de Michaelis-Menten (ecuación 2) y entonces $[S]_{0.5}$ corresponde a la constante de Michaelis, Km. Esta ecuación describe la interacción enzima-sustrato, de primer orden.

$$v = V_{max} \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad (2)$$

2. La ecuación de Hill en la saturación de la mioglobina.

La mioglobina (Mb) es una hemoproteína monomérica que incluye dentro de sus propiedades fisicoquímicas la unión a oxígeno. La reacción química que describe la unión es la siguiente



$$K_d = [Mb][O_2]/[MbO_2]$$

Donde:

Kd es la constante de disociación

Mb es la mioglobina

A la Mb se le une una molécula de oxígeno, se le localiza cerca de los elementos contráctiles y de la membrana celular en el músculo esquelético rojo y músculo cardiaco de vertebrados [5]. La fracción de mioglobina que está unida a oxígeno, es representada por theta θ . Se mide como una función de la presión de oxígeno (PO₂), la cual produce una curva sigmoideal (ecuación 3).

$$\theta = \frac{P_{O_2}}{P_{50} + P_{O_2}} \quad (3)$$

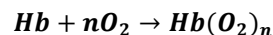
3. La ecuación de Hill en los procesos cooperativos y la saturación de la hemoglobina.

La unión molecular es una interacción estable entre esas moléculas [6]. Cuando los ligandos se unen a una macromolécula de una manera no lineal a sitios específicos se está ante una unión cooperativa. Este tipo de unión se realiza con mayor frecuencia en las proteínas, pero también ocurre en los ácidos nucleicos. Se describen dos tipos de unión cooperativa: (1) positiva y (2) negativa. En la primera, la unión de un ligando al receptor aumenta la afinidad y se facilita la unión de otros ligandos. En la segunda, la unión del ligando al receptor disminuye la afinidad y en consecuencia hace que la unión de otros ligando sea menos probable. Este tipo de mecanismo se presenta en una amplia gama de procesos bioquímicos y fisiológicos. Wiman y Gill (1990) presentan una revisión de los trabajos relacionados con los procesos cooperativos y su efecto en diferentes contextos [7].

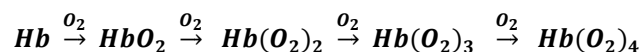
Un ejemplo de un proceso fisiológico, de unión cooperativa, se describió en los trabajos de Bohr [8] relacionados con la unión de oxígeno a la hemoglobina. Mostró que este proceso sigue una función sigmoideal; la gráfica del porcentaje de saturación de la hemoglobina contra la presión parcial de oxígeno es una curva sigmoideal. Con altas concentraciones de CO₂, la curva se desplaza hacia la derecha; esto significa que disminuye la afinidad. En cambio cuando se incrementa el pH se incrementa la afinidad (efecto Bohr), la curva se desplaza hacia la izquierda.

Los estudios realizados por Adair [9] mostraron que a mayor pH, mayor afinidad del oxígeno por la hemoglobina. Por ejemplo, a un pH de 8.3 la saturación se alcanza a los 20 mmHg; en cambio a un pH de 6, la saturación se logra a una presión mayor de 80 mmHg.

La reacción química para la oxihemoglobina es:



La unión de O₂ a la hemoglobina es de tipo cooperativa. La primera unión de O₂ a la Hb hace que la segunda molécula se una fácilmente, esta segunda molécula hace que la tercera molécula se una más fácilmente y esta a su vez hace que la cuarta molécula de O₂ se una aproximadamente 400 veces más fácil. Esta unión se ilustra en la siguiente reacción:



Para todos los procesos cooperativos, generalmente el coeficiente de Hill se usa para estimar el número de ligandos que se unen a un receptor para que produzca un efecto fisiológico o farmacológico [10]. El coeficiente de Hill corresponde al número de ligandos y se puede obtener de los datos

experimentales: Se obtienen datos experimentales, se grafican y se les ajusta la función de Hill, se modifica el valor del coeficiente de Hill hasta que la función ajuste los datos experimentales.

En este trabajo se presenta el diseño y desarrollo de varios simuladores que permiten al alumno introducirse al estudio de este tipo de procesos cooperativos y observar la utilidad de la ecuación de Hill.

MATERIAL Y MÉTODO

Se diseñaron y desarrollaron tres programas de cómputo interactivos: (1) Simular-Hill, (2) Saturar y (3) O₂HbComparar. Para este propósito se utilizó el lenguaje Visual Basic® versión 6.0 para ambiente Windows®. Los programas fueron compilados y se generaron archivos ejecutables. Los simuladores utilizan la ecuación de Hill para el estudio de una reacción química elemental y cooperativa, la saturación de la mioglobina, la saturación de la hemoglobina y de proteínas transportadoras, la saturación de Hb en diferentes especies y la modificación de la curva con respecto a cambios en el pH.

RESULTADOS

A continuación, se describen los tres programas desarrollados y se muestra un ejemplo de simulación.

1. Simular-Hill.

El programa "Simular-Hill" en su versión 1.0 está compuesto de tres simuladores (Figura 1): (1) Saturar Hill, permite el estudio de reacciones enzimáticas, (2) Saturar mioglobina, permite estudiar la fracción de saturación de la mioglobina y (3) Saturar proteínas transportadoras, que permite estudiar la fracción de saturación de tipo cooperativo y comparar con la fracción de saturación de la mioglobina.

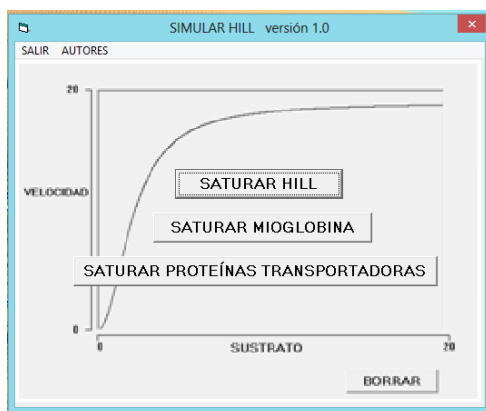


Figura 1. Pantalla de inicio que muestra el menú principal del programa "Simular-Hill"

a) Saturar Hill.

Al seleccionar <<SATURAR HILL>> se ingresa al primer simulador del programa. Se abre la ventana de interfaz (Figura 2). Del lado derecho, se encuentra el módulo para ingresar datos: velocidad máxima (V_m), la constante de Michaelis (K_m) y el coeficiente de Hill (n). Del lado izquierdo, se muestra la gráfica de la velocidad de la reacción con respecto a la concentración de sustrato. En esta versión los valores de V_m que se recomiendan ingresar son de 10 a 19 para que la curva tenga una amplitud suficientemente grande para su visualización. Los valores de K_m van de 2 a 100 y el coeficiente de Hill de 1 a 10. En la figura 2, se muestra una simulación de una reacción enzimática de primer orden. La velocidad máxima fue de 19, $K_m = 4$ y el coeficiente de Hill $n = 1$. Al correr la simulación se grafica la velocidad contra la concentración de sustrato.

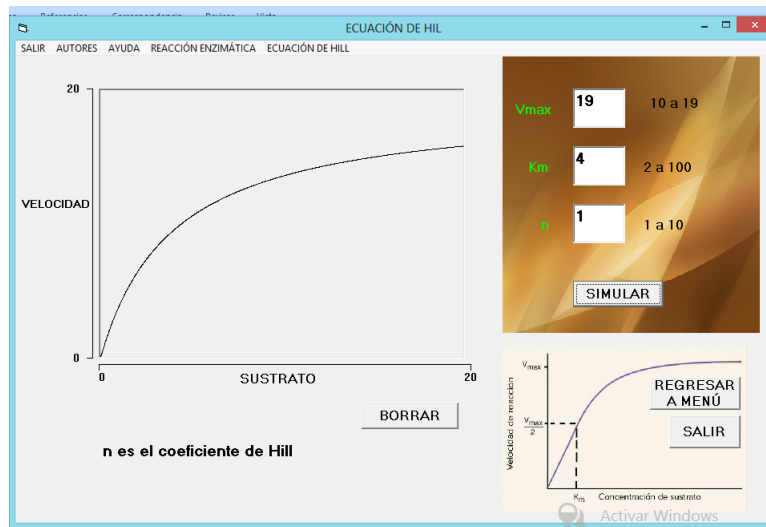


Figura 2. Interfaz del simulador SATURAR-HILL. Simulación de una reacción enzimática tipo Michaelis-Menten debido a que el coeficiente de Hill es 1.

b) Saturar Mioglobina

Con este simulador el alumno observa la saturación de oxígeno en la mioglobina. La pantalla de interfaz se muestra en la figura 3. Está dividida en dos partes: del lado derecho se encuentra el módulo de ingreso de datos, en este caso, la presión de oxígeno al 50%. Del lado izquierdo, se encuentra un recuadro para el graficado de la fracción de saturación con respecto a la presión parcial de oxígeno.

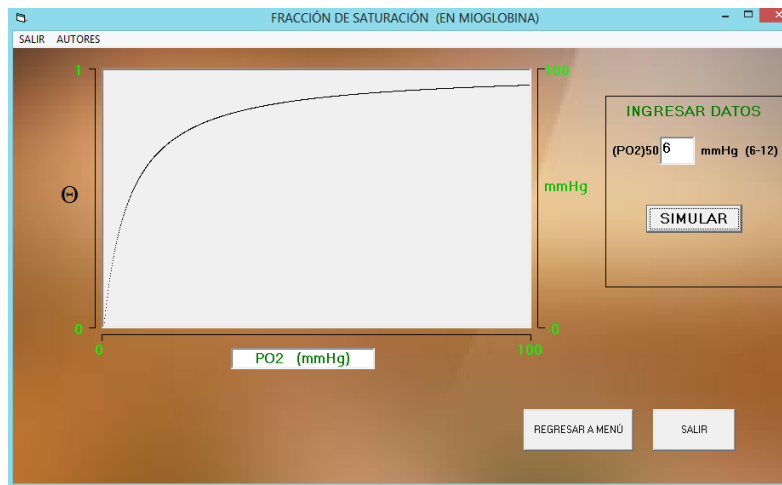


Figura 3. Simulador Saturar-Mioglobina. Se muestra una simulación de la curva de saturación de la mioglobina. La presión media de oxígeno fue de 6 mmHg. La gráfica es parecida a una reacción tipo Michaelis-Mente debido a que a la mioglobina solamente se le une una molécula de oxígeno. La unión es de tipo no cooperativa.

c) Simulador Saturar Proteínas Transportadoras "Saturar-Protein"

Este simulador permite observar las curvas de saturación de oxígeno en reacciones de tipo cooperativo dependientes de presión parcial de oxígeno y compararlas con la curva de saturación de la mioglobina. La figura 4, muestra la ventana de interfaz. Del lado derecho se localiza el módulo de ingreso de datos: PO₂ al 50% y el coeficiente de Hill. De lado izquierdo, el módulo de graficado.

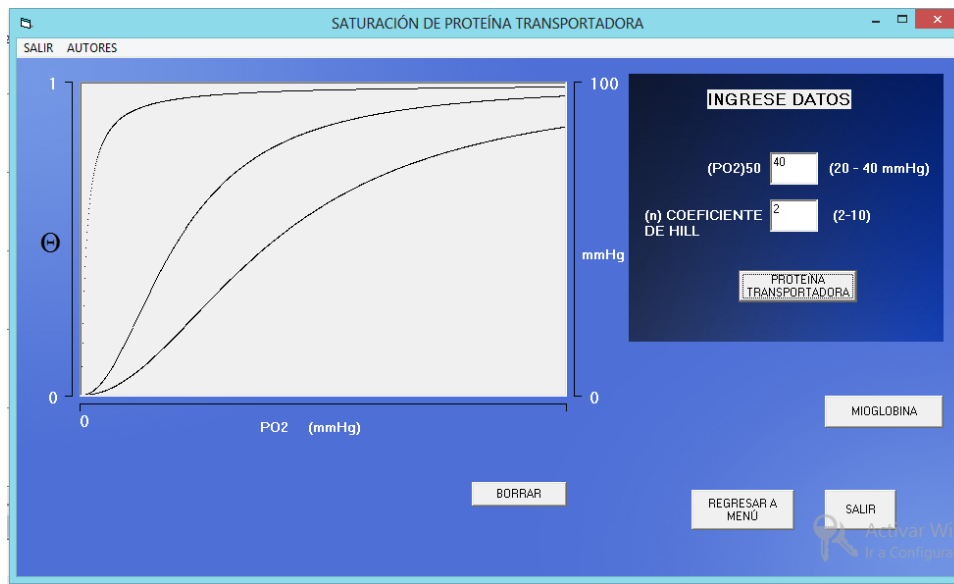


Figura 4. Interfaz del simulador Saturar-Protein. Se presentan tres simulaciones: La curva que satura a menores presiones corresponde a la mioglobina. Las otras dos gráficas corresponden a una interacción cooperativa con coeficiente de Hill $n = 2$, pero con diferentes PO_2 al 50%.

2. Programa Saturar

Este programa permite el estudio de la saturación de la hemoglobina. En este caso, a una persona (paciente) se le coloca una mascarilla para poder variar la presión parcial de oxígeno en el alveolo pulmonar. La figura 5, muestra la interfaz del simulador. En la parte superior derecha, se encuentra un tanque de oxígeno y al lado una barra vertical que al moverla permite variar la PO_2 que se subministra. En la parte inferior derecha se muestra la curva de carga producto de la simulación. Dentro del recuadro de graficado se encuentra una franja azul que corresponde a las presiones PO_2 a nivel de los tejidos; y una franja roja que corresponde a PO_2 en los pulmones. Del lado izquierdo, se muestra un esquema de las reacciones que se producen en el pulmón y en los tejidos. Además se encuentran dos recuadros de salida: uno para mostrar el porcentaje de saturación en los tejidos y el otro en los pulmones.

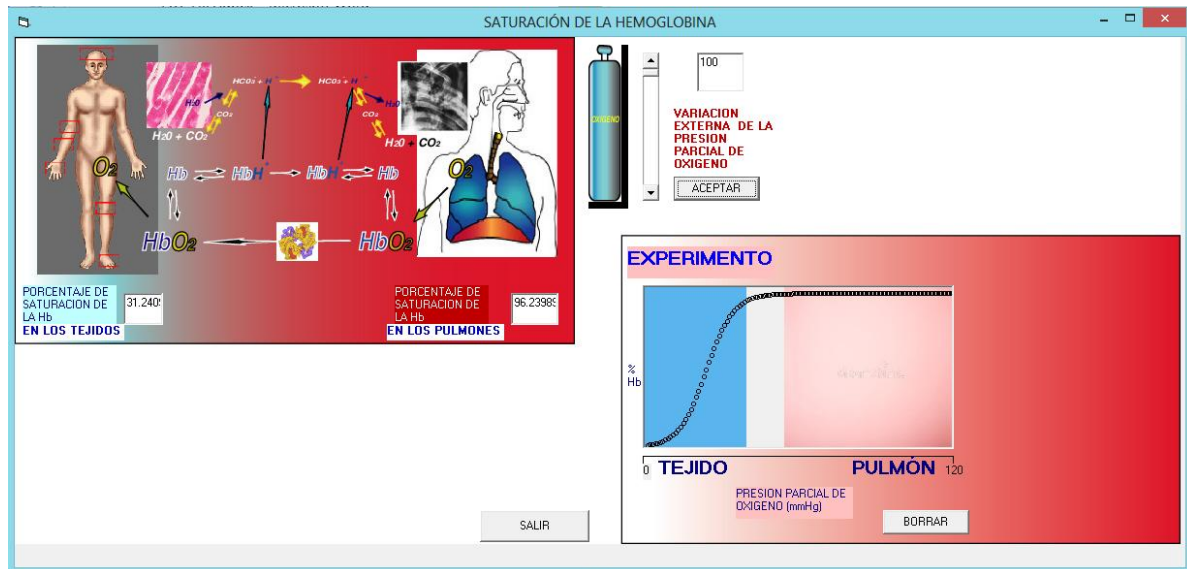


Figura 5. Interfaz del simulador Saturar. Se muestra una simulación con 100 mmHg de PO_2 suministrada. En los pulmones se alcanza una saturación del 96 % y en los tejidos de 28 %.

3. O2HbComparar

Con este simulador el usuario puede realizar simulaciones de saturación de la hemoglobina en humano, cerdo y ratón. La figura 6, muestra la interfaz. Del lado derecho y abajo, se encuentra la entrada de datos: Temperatura, PO_2 , pH, PCO_2 . Del lado izquierdo, se encuentran los botones para simular humano, cerdo y ratón.

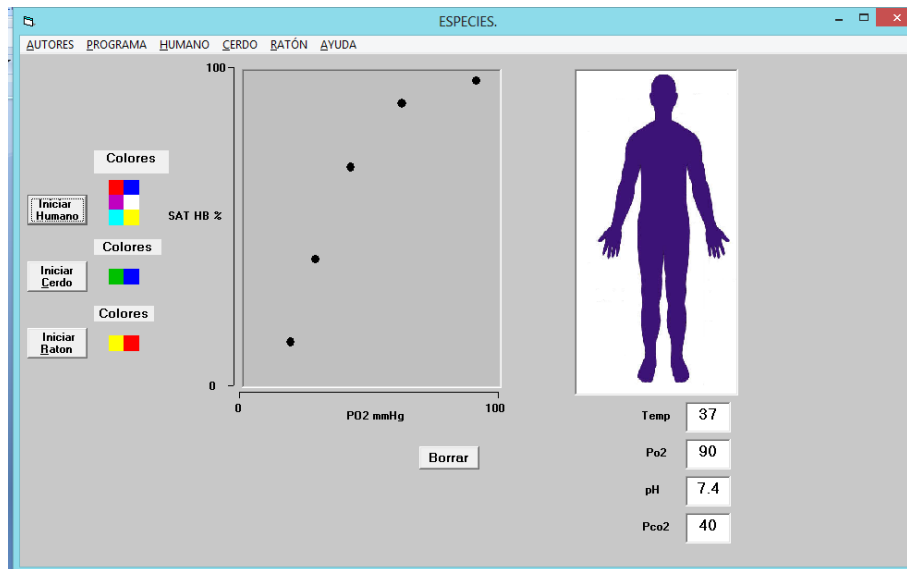


Figura 6. Interfaz del simulador O2HbComparar. Simulación de la curva de saturación en humano.

Con este simulador el usuario puede comparar curvas de saturación entre especies. El menú superior horizontal permite obtener valores de las variables para cada especie. También se puede modificar el pH y observar la influencia de esta variable en la curva de saturación.

CONCLUSIONES

La mayoría de los procesos fisiológicos son más complejos que un simple proceso de primer orden; esto significa que son de tipo no lineal e implica interacciones de múltiples moléculas. De ahí la importancia que tiene la ecuación de Hill para los biólogos, médicos, bioquímicos y profesionales afines, porque con ella se pueden describir los efectos de estos procesos. Con los simuladores desarrollados, los alumnos podrán realizar múltiples simulaciones y observar las interacciones simples y cooperativas. Se recomienda su uso como una herramienta de apoyo para el tema. No sustituyen al profesor y su uso no requiere de conocimientos especiales de computación.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. V. Hill, "The possible effects of the aggregation of the molecules of haemoglobin on its dissociation curves", *J. Physiol*, Vol. 40, 1910, (Suppl.), iv-vii.
2. J. N. Weiss. "The Hill equation revisited: uses and misuses", *FASEB J.*, Vol. 11, 1997, pp. 835-841.
3. J. S. Griffith. "Mathematics of cellular control processes. I. Negative feedback to one gene", *J. Theor. Biol.*, Vol. 20, 1968, pp. 202-208.
4. J. S. Griffith, "Mathematics of cellular control processes. II. Positive feedback to one gene", *J. Theor. Biol.*, Vol. 20, 1968, pp. 209-216.
5. L. J. Kagen, "Myoglobin" (New York, London: Columbia University Press, 1973).
6. M. I. Stefan, N. Le Novère, "Cooperative binding", *PLOS Computational Biology*, Vol. 9, 6, 2013, pp. 1-6.
7. J. Wyman, S. J. Gill, "Binding and linkage: Functional chemistry of biological Molecules", (Mill Valley: University Science Books, 1990).
8. C. K. Bohr, Hasselbalch, A. Krogh, "Ueber einen in biologischer Beziehung wichtigen Einfluss, den die Kohlensäurespannung des Blutes auf dessen Sauerstoffbindung übt. Skandinavisches". *Arch Physiol* Vol.16, 1904, pp. 402-412.
9. G. S. Adair, "The hemoglobin system. IV. The oxygen dissociation curve of Hemoglobin". *J Biol Chem*, Vol. 63, 1925, pp. 529-545.
10. R. Gesztelyi, J. Zsuga, A. Kemeny-Beke, B. Varga, B. Juhasz, A. Tosaki, "The Hill equation and the origin of quantitative pharmacology". *Archive for History of Exact Sciences*, Vol. 66, 4, 2012, pp. 427-438.

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NUEVAS FASES CRISTALINAS DERIVADAS DE LA 2,5-DIHIDROXI-1,4-BENZOQUINONA CON POSIBLES APLICACIONES ELECTROMAGNÉTICAS.

Martha Virginia Sosa-Rivadeneira,¹ Nicté-Ha Itzei Ramos Ortega,¹ María Obdulia Sánchez-Guadarrama,¹ Primavera López Salazar,² Javier Martínez Juárez,² Herbert Höpfl³

¹Centro de Investigación de la Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP). 14 Sur Esquina San Claudio, San Manuel, 72570, Puebla, México.

²Centro de Investigación en Dispositivos Semiconductores, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (ICUAP). 14 Sur Esquina San Claudio, San Manuel, 72570, Puebla, México.

³Centro de Investigaciones Químicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1001, C.P. 62209 Cuernavaca, Morelos, México

RESUMEN

Los materiales orgánicos que están constituidos por uno o varios compuestos químicos pueden dar lugar a la formación de cristales moleculares de múltiples componentes con posibles propiedades funcionales que pueden ir desde compuestos farmacéuticos hasta materiales con aplicaciones tecnológicas tales como (semi) conductividad, ferroelectricidad y magnetismo. Bajo este contexto, se planteó preparar y caracterizar nuevas fases cristalinas moleculares multicomponentes derivadas de la 2,5-dihidroxi-1,4-benzoquinona con bases dinitrogenadas tales como el 1,4-diazabicyclo [2.2.2]-octano (DABCO), la piperazina, la pirazina y la fenazina a través de las técnicas de molienda, y molienda asistida por disolvente. De esta forma, se realizó un screening para la preparación de los productos variando las condiciones de reacción. La caracterización por DRX de polvos permitió concluir que se obtuvieron 3 nuevas fases cristalinas con posibles aplicaciones electromagnéticas. Estos nuevos productos también se caracterizaron por espectroscopía IR.

INTRODUCCION

La unión no covalente juega un papel clave en la formación de estructuras de estado sólido basadas en moléculas orgánicas. Los materiales orgánicos cristalinos están constituidos por uno o varios compuestos químicos los cuales dan lugar a cristales moleculares de múltiples componentes. En este contexto, el diseño de cristales multicomponentes, tales como sales, solvatos o cocrystalos,¹ ofrece la posibilidad de cambiar las propiedades fisicoquímicas del cristal sin cambiar las propiedades químicas de una molécula de interés. Para ello se puede proponer un diseño racional de sólidos moleculares funcionales en la ingeniería de cristales,² lo que permite comprender las interacciones intermoleculares que prevalecen en el cristal molecular. Por lo tanto, el cristal molecular multicomponente se ensambla considerando interacciones heteromoleculares, frecuentemente enlaces de hidrógeno, enlaces de halógeno y / o interacciones de π - π .³ Tales interacciones a menudo controlan aspectos estructuralmente notables del material cristalino que son responsables de posibles propiedades funcionales que se pueden emplear para diseñar materiales con características deseadas y específicas, desde compuestos farmacéuticos⁴⁻⁶ hasta materiales de aplicaciones tecnológicas tales como (semi) conductividad, ferroelectricidad y magnetismo.⁷

Por su parte, los ferroeléctricos orgánicos de baja masa molecular son candidatos multifuncionales como dispositivos orgánicos electrónicos y ópticos futuros.^{8,9} El estudio formal de los materiales ferroeléctricos comenzó hace más de un siglo al observar constantes piezoeléctricas inusualmente altas en el material conocido como la sal de Rochelle. En las décadas posteriores, se reportó histéresis en la polarización, función dieléctrica y la deformación de este material, y emergieron teorías para explicar su comportamiento dieléctrico, piezoeléctrico, elástico y transiciones de fase anómalas.

TEORIA

En los años 30 se descubrió ferroelectricidad en otro grupo de materiales, basados en KH_2PO_4 , y se desarrolló una teoría sobre la transición de fase ferroeléctrica. La ferroelectricidad se observó en los años 40 en el BaTiO_3 y óxidos relacionados con estructuras perovskitas, estimulando la investigación orientada al descubrimiento y caracterización de materiales ferroeléctricos.

Desde la década de los 90 ha habido un gran avance en la comprensión de la física fundamental de los ferroeléctricos, lo que a su vez ha contribuido a la optimización de materiales para elaborar

dispositivos destinados a aplicaciones específicas. Hoy los ferroeléctricos son utilizados en una variedad de aplicaciones que incluyen transductores y actuadores (debido a sus propiedades piezoeléctricas), capacitores (debido a su alta permitividad eléctrica) y dispositivos de memorias (dado que las propiedades de histéresis resultan en dos estados de polarización opuesta). Históricamente, el primer informe de un componente orgánico ferroeléctrico (ión tartrato), fue la "sal de Rochelle" ($\text{KOOCC}(\text{OH})\text{CH}(\text{OH})\text{COONa} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$).¹⁰ Los ferroeléctricos orgánicos convencionales, son en general del tipo orden-desorden, ya que las moléculas que los constituyen pueden ser fácilmente de asimetría. Entre los ferroeléctricos orgánicos convencionales están la tiourea (1),¹¹ el tanano (TEMPO) (2),¹² la tricloroacetamida (3),¹³ el 1,6 Bis(2,4-dinitrofenoxi)hexa-2,4-diino (4),¹⁴ el triciclohexilmetanol (5),¹⁵ y el ácido ciclohexano - 1,1 - diacético (6).¹⁶

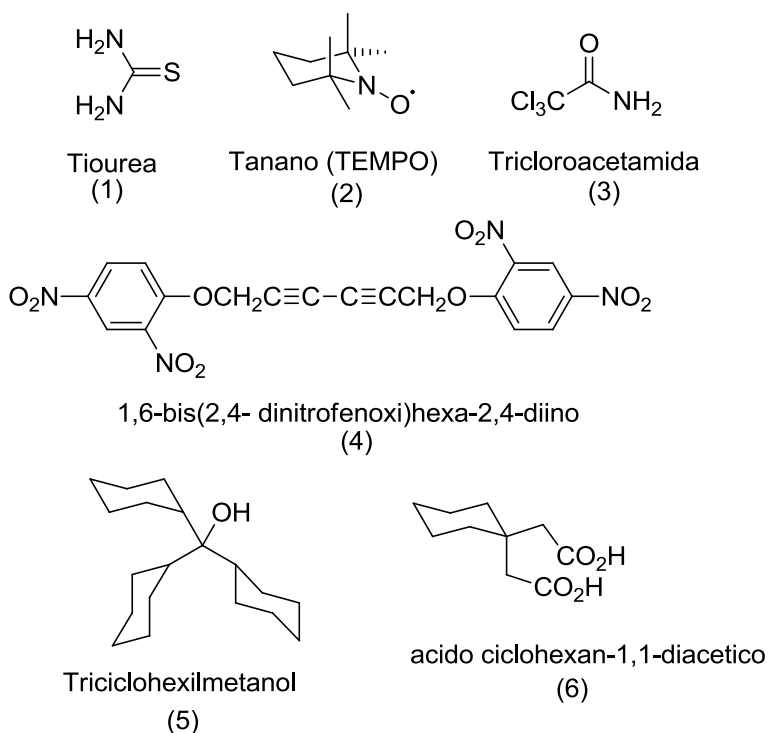


Fig. 1 Ferroeléctricos orgánicos convencionales.

En los últimos años, se han implementado nuevas estrategias para el desarrollo de ferroeléctricos orgánicos. La primera de ellas que se ha utilizado es la participación de un dador de electrones (D) y un aceptor (A) de carga opuesta en un complejo de transferencia de carga, especialmente en sistemas de múltiples componentes, para crear una estructura polar.¹⁷ La segunda estrategia consiste en utilizar la transferencia de protones por medio de un enlace de hidrógeno, como se ha observado en los ferroeléctricos tales como la sal de Rochelle y el KDP,¹⁸ llevando a la conclusión de que el enlace de hidrógeno es necesario para la ferroelectricidad. Investigaciones recientes han combinado el sistema multi-componente de tipo D-A y el enlace de hidrógeno, donde las moléculas de donante de protones (ácido) y de aceptor (base) se combinan con enlaces de hidrógeno intermoleculares.

Entre los compuestos orgánicos unidos por enlace de hidrógeno (H)¹⁹ se encuentran aductos neutros que se componen por la fenazina (Phz) como base (A) y las 2,5-dihalo-3,6-dihidroxi-p-benzoquinonas (o ácido anílico, abreviado H2Xa)²⁰ como los ácidos (D), donde tanto el ácido como la base son moléculas π -conjugadas.

Los ácidos anílicos pueden actuar tanto como donadores de protones como para aceptores de electrones.²¹⁻²³ y tienen una excelente capacidad para formar diversos compuestos de tipo DA porque pueden adoptar diversos grados de protonación y oxidación. Las moléculas de H2Xa liberan dos protones uno a la vez, como se muestra en la Fig. 2. Las constantes de disociación ácida bajas

pK_{a1} y pK_{a2}^{24} indican que usualmente sirven como ácidos dibásicos fuertes en combinación con diversas bases. Se forman aductos neutros o sales monovalentes o divalentes con transferencia de protones dependiendo de la basicidad y / o de la relación molar D-A.^{23,25,26} Se observa que las moléculas de H_2Xa y Xa^{2-} desprotonadas forman varios enlaces de hidrógeno con ellos mismos o con las moléculas del disolvente, construyendo una variedad de sintones supramoleculares.

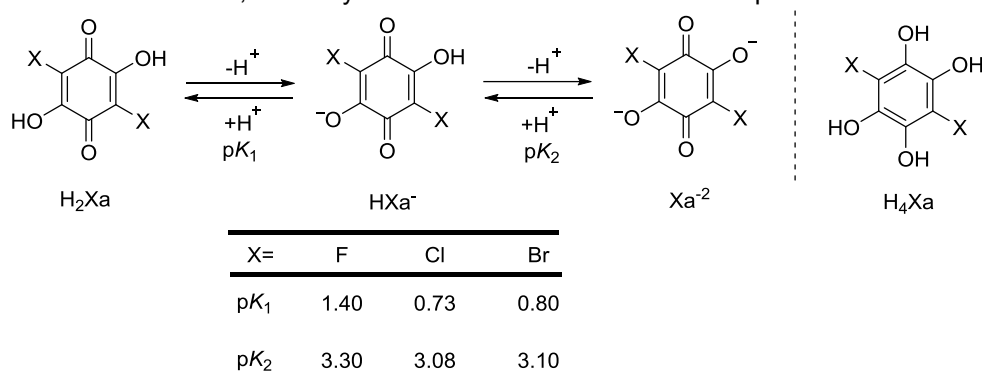


Fig. 2. Proceso de la transferencia de protones en las 2,5-dihalo-3,6-dihidroxi-p-benzoquinonas.

Una característica del fragmento conjugado es la tautomerización ceto-enol,²⁷ denominado resonancia asistida por enlace de hidrógeno (RAHB), que es responsable de fuertes interacciones intramoleculares o intermoleculares.²⁸ Así, los átomos de oxígeno pueden enlazarse estrechamente con las moléculas a través de enlaces bifurcados O ... H ... N, que varían desde la forma neutra hasta la forma iónica (Fig. 3)

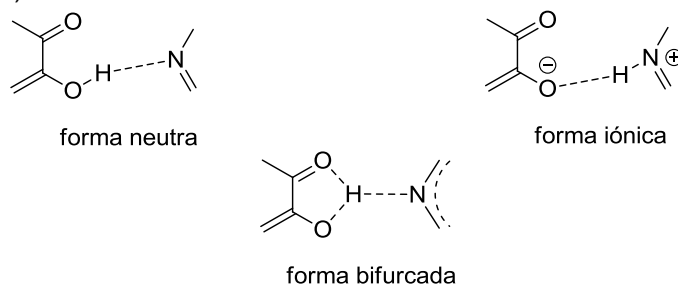


Fig. 3. Tipos de enlazamiento de hidrógeno entre fragmentos π -conjugados y bases nitrogenadas.

PARTE EXPERIMENTAL

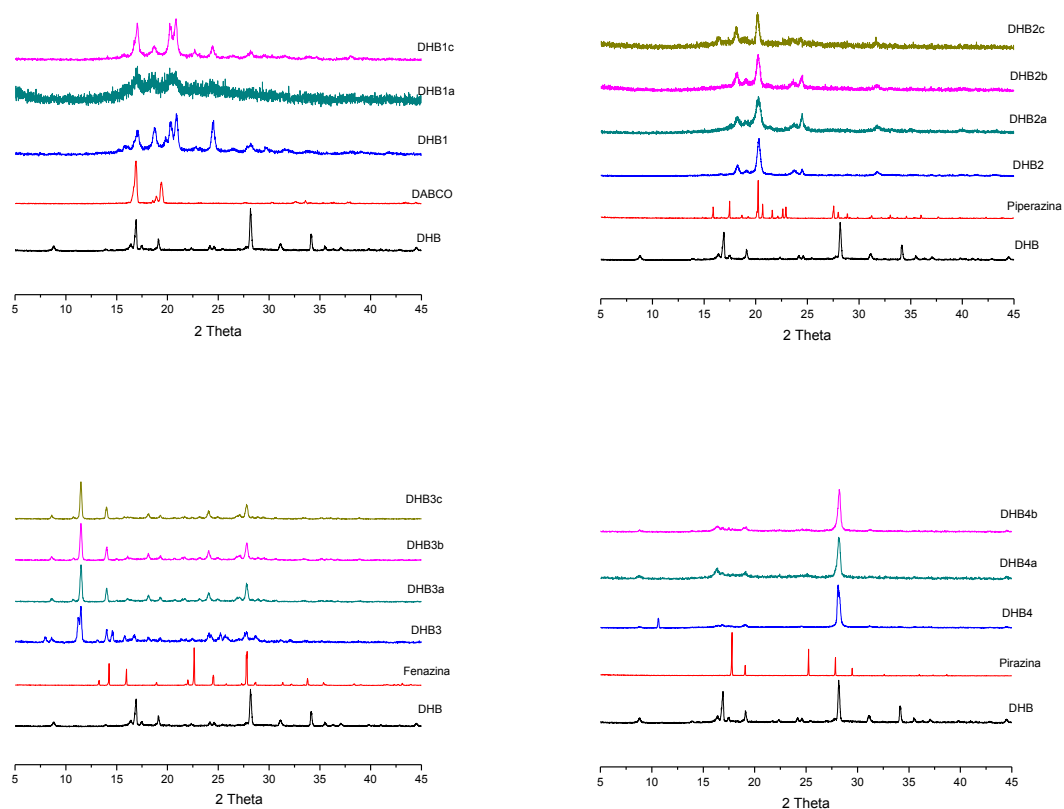
La 2,5-dihidroxi-1,4-benzoquinona (DHB) y la base dinitrogenada correspondiente se hicieron reaccionar en una relación equimolar 1:1 mediante las técnicas de molienda, molienda asistida por el disolvente en un mortero de ágata durante 20 minutos. Los disolventes utilizados para molienda asistida fueron acetona, acetonitrilo y metanol.

Los patrones de difracción de rayos X de polvos se obtuvieron con un difractómetro marca Bruker modelo D8 Discover con geometría de haces paralelos empleando la radiación de un tubo de cobre $CuK\alpha$ ($\lambda = 1.54 \text{ \AA}$) y un detector centelleo de NaI. El análisis por IR se llevó a cabo utilizando un espectrofotómetro ThermoScientific FT-IR Nicolet 6700. Las mediciones se realizaron en el rango $4000-400 \text{ cm}^{-1}$.

RESULTADOS

ANÁLISIS POR DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE POLVOS

Los patrones de difracción de rayos X de polvos (PXRD) de los productos resultantes DHB1 (DHB/DABCO), DHB2(DHB/Piperazina), DHB3 (DHB/Fenazina) y DHB4 (DHB/Pirazina) se compararon con los patrones de sus respectivos reactivos observando que en los tres primeros casos se obtuvo una nueva fase cristalina diferente a la de los reactivos. Para el compuesto DHB4 se observó la obtención de una fase amorfa con picos correspondientes a la DHB, los picos correspondientes a la pirazina no se observaron, Figura 4.



Las letras en las claves corresponden a: a-acetona, b-CH₃CN, c-MeOH

Figura 4. Comparación entre los patrones de difracción de rayos X de polvos de los productos de molienda DHB1, DHB2, DHB3 y DHB4 con los patrones de DRXP de los respectivos reactivos.

ANÁLISIS POR ESPECTROSCOPIA IR

Los compuestos obtenidos de las moliendas se estudiaron por espectroscopía IR. Para los compuestos DHB1, DHB2 y DHB3 se observaron bandas que indican la presencia de un nuevo compuesto. En los tres casos se pudieron ver bandas anchas en el rango 2116-2839 cm⁻¹ y entre 2956-3171 cm⁻¹ que indican vibraciones de tensión de un sistema de enlace de hidrógeno intermolecular N⁺-H...O⁻ and N⁺-H...O. También aparecen bandas que hacen proponer la formación de sales debido a la transferencia de protones por parte de la DHB hacia los nitrógenos de las aminas correspondientes. Estas bandas se encuentran situadas entre 1439-1472 cm⁻¹ (simétrica) y 1620-1635 cm⁻¹ (asimétrica) que indican la presencia del grupo carboxilato, (Tabla 1, Figura 5).

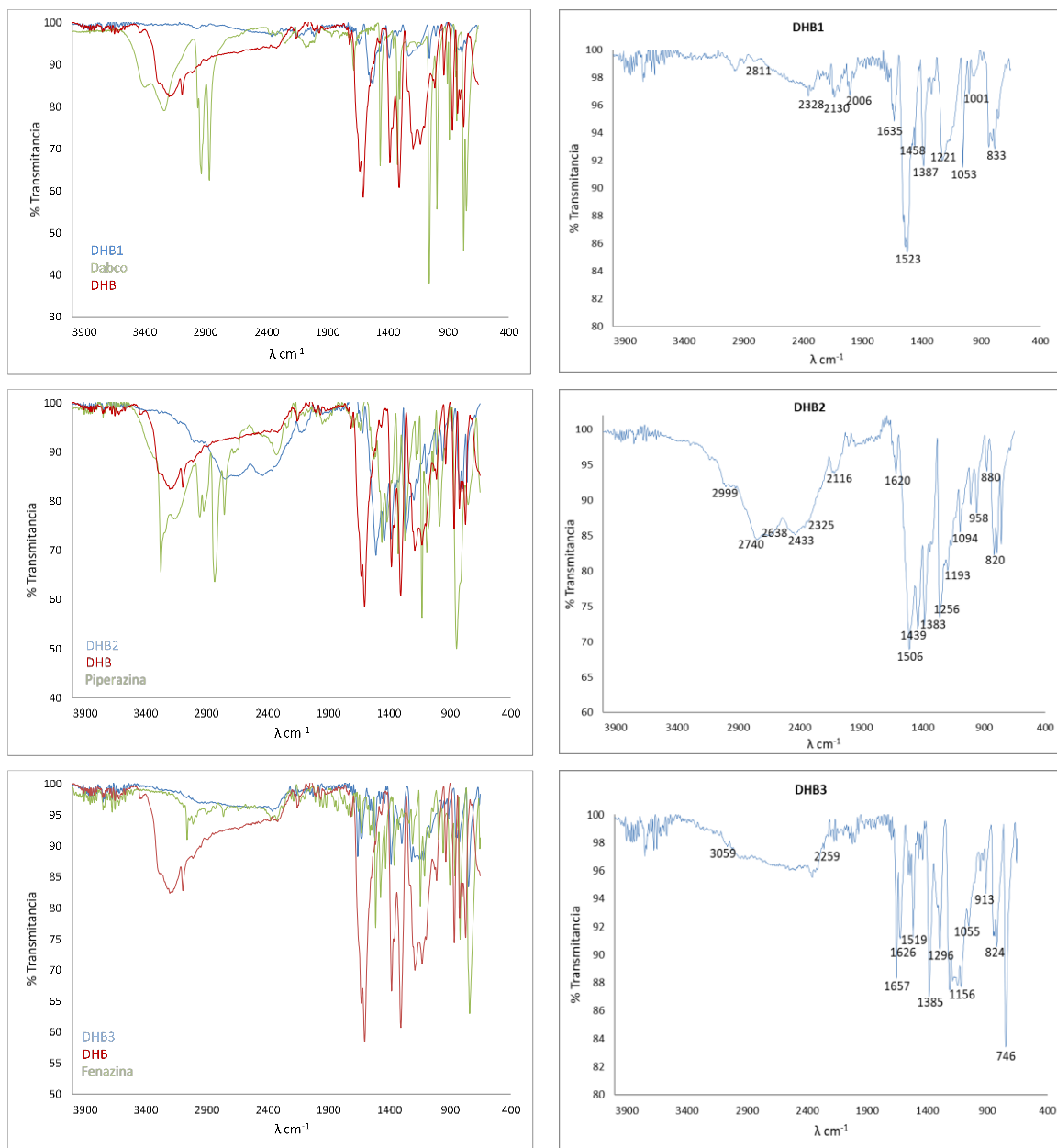


Figura 5. Comparación de los espectros de IR de los reactivos y los productos de molienda DHB1, DHB2 y DHB3

Tabla 1. Asignación de las bandas características en el IR para los compuestos DHB1, DHB2, DHB3 y sus correspondientes reactivos de partida.

ν (cm ⁻¹)	DHB	DABCO	Fenazina	Piperazina	DHB1	DHB2	DHB3
C-H	3093	2867 2938	3059	2831 2919	2811		
C-N		1055		1088	1053		1055
C=C, C=N	1303- 1376		1428- 1556 1357			1383- 1506	
N-H, O-H	3228			3273			
C=O	1600						
N ⁺ H...O ⁻					2130- 2811	2116- 2839	2259- 2828
N ⁺ -H...O					2968	2999- 3128	2956- 3171
C-O ⁻					1523- 1635 1458	1506- 1620 1439	1519- 1626 1472

CONCLUSIONES

El análisis de los difractogramas de DRXP y la espectroscopía IR demostraron la formación de nuevos compuestos cristalinos. El siguiente paso será buscar las condiciones óptimas para la preparación de los monocristales por evaporación lenta del disolvente. La obtención de los monocristales nos permitirá realizar el estudio de DRX de monocristal y explicar las propiedades físicas de los mismos.

BIBLIOGRAFÍA

- Grothe, E.; Meekes, H.; Vlieg, E.; ter Horst, J. H.; de Gelder, R. *Cryst. Growth Des.* 2016, *16*, 3237.
- Desiraju, G. R. 1995, *34*, 2311-2327, b) Desiraju, G. R. *J. Chem. Sci.*, 2010, *122*, 667.
- Aitipamula, S.; Banerjee, R.; Bansal, A. K. *Crystal Growth Design*, 2012, *12*, 2147.
- Babu, N. H.; Nangia, A. *Cryst. Growth Des.* 2011, *11*, 2662.
- Félix-Sonda, B. C.; Rivera-Islas, J.; Herrera-Ruiz, D.; Morales-Rojas, H.; Höpfl, H. *Cryst. Growth Des.* 2014, *14*, 1086.
- Sánchez-Guadarrama, O.; Mendoza-Navarro, F.; Cedillo-Cruz, A.; Jung-Cook, H.; Arenas-García, J. I.; Delgado-Díaz, A.; Herrera-Ruiz, D.; Morales-Rojas, H.; Höpfl, H. *Cryst. Growth Des.* 2016, *16*, 307.
- Li, J.; Liu, Y.; Zhang, Y. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2013, *15*, 20786.
- Lines, M. E.; Glass, A. M. *Principles and Applications of Ferroelectrics and Related Materials*, Oxford University Press, New York, 1977.
- Uchino, K. *Ferroelectric Devices*, Marcel Dekker, New York, 2000.
- Valasek, J. *Phys. Rev.* 1921, *17*, 475.
- Goldsmith, G. J.; White, J. G. *J. Chem. Phys.* 1959, *31*, 1175.
- Bordeaux, D.; Bornarel, J. A.; Lajzerowicz- Bonneteau, C. J.; Lajzerowicz, J.; Legrand, J. F., *Phys. Rev. Lett.* 1973, *31*, 314.
- Kamishima, Y.; Akishige, Y.; Hashimoto, M., *J. Phys. Soc. Jpn.* 1991, *60*, 2147.
- Lipscomb, G. F.; Garito, A. F.; Wei, T. S. *Ferroelectrics*, 1980, *23*, 161.
- Szklarz, P.; Bator, G. *J. Phys. Chem. Solids* 2005, *66*, 121.
- Kroupa, J.; Vanek, P.; Krupkova, R.; Zikmund, Z. *Ferroelectrics*, 1997, *202*, 229.
- Collet, E.; Lemee-Cailleau, M. H.; Buron-Le Cointe, M.; Cailleau, H.; Wulff, M.; Luty, T.; Koshihara, S. Y.; Meyer, M.; Toupet, L.; Rabiller, P.; Techert, S. *Science*, 2003, *300*, 612.

18. Busch, G.; Scherrer, P. *Naturwissenschaften*, 1935, *23*, 737.
19. Horiuchi, S.; Ishii, F.; Kumai, R.; Okimoto, Y.; Tachibana, H.; Nagaosa, N.; Tokura, Y. *Nat. Mater.*, 2005, *4*, 163; (b) Horiuchi, S.; Kumai, R.; Tokura, Y. *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, *127*, 5010.
20. Kitagawa, S.; Kawata, S. *Coord. Chem. Rev.*, 2002, *224*, 11.
21. Thomas, L. H.; Adam, M. S.; O'Neill, A.; Wilson, C. C. *Acta Crystallogr., Sect. C* 2013, *69*, 1279.
22. a) Samipillai, M.; Braga, D.; Grepioni, F.; Lampronti, G. I. *Cryst. Eng. Comm*, 2010, *12*, 2107.
b) Braga, D.; Maini, L.; de Sanctis, G.; Rubini, K.; Grepioni, F.; Chierotti, M. R.; Gobetto, R. *Chem. Eur. J.* 2003, *9*, 5538.
23. Zaman, M. B.; Tomura, M.; Yamashita, Y. *Chem. Commun.* 1999, 999.
24. Wallenfels, K.; Friedrich, K. *Zur. Chem. Ber.* 1957, *90*, 3070.
25. (b) Zaman, M. B.; Tomura, M.; Yamashita, Y. *Org. Lett.*, 2000, *2*, 273; (c) Zaman, M. B.; Tomura, M.; Yamashita, Y. *J. Org. Chem.*, 2001, *66*, 5987; (d) Zaman, M. B.; Konstantin, K. A.; Ripmeester, J. A. *Cryst. Growth Des.*, 2004, *4*, 585.
26. (a) Ishida, H.; Kashino, S. *Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun.*, 1999, *C55*, 1149; (b) Ishida, H.; Kashino, S. *Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun.*, 1999, *C55*, 1923.
27. Sugawara, T.; Takasu, I. *Adv. Phys. Org. Chem.* 1999, *32*, 219.
28. Gilli, G.; Bellucci, F.; Ferretti, V. & Bertolasi, V. *J. Am. Chem. Soc.* 1989, *111*, 1023.

EXPRESIÓN DE α -SMA Y SU RELACIÓN CON LA TRANSICIÓN EPITELIAL-MESENQUIMAL EN CÉLULAS EPITELIALES MAMARIAS ESTIMULADAS CON LEPTINA

Erika Jaqueline Acosta De la Cruz¹, Miguel Mendoza Robles¹, Monserrat Olea Flores¹, Francisco Yovani Vargas Santiago¹, Eduardo Castañeda Saucedo¹, Miguel Ángel Mendoza Catalán², Napoleón Navarro Tito¹

¹ Laboratorio de Biología Celular del Cáncer, ² Laboratorio de Biomedicina Molecular. Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero.
erikaacostauacqb@hotmail.com nnavarro@uagro.mx

RESUMEN

El cáncer de mama es originado por la proliferación descontrolada de las células del epitelio glandular mamario. Se ha reportado que la obesidad está relacionada con la progresión del cáncer de mama. Leptina es una hormona sintetizada por los adipocitos y se ha descrito que induce la transición epitelio-mesenquimal, un proceso biológico relacionado con las primeras etapas de la metástasis. Durante esta transición se expresan proteínas que colaboran al fenotipo mesenquimal, una de ellas es α -SMA. Objetivo: Evaluar los niveles de expresión y la localización subcelular de α -SMA durante la EMT inducida por leptina en células epiteliales mamarias. Metodología: Se utilizaron células MCF10A y MCF-7 estimuladas con leptina. La localización subcelular de α -SMA se observó por Inmunofluorescencia y los niveles proteicos de α -SMA se determinaron mediante Western blot. Resultados: Leptina induce la expresión de α -SMA de manera específica del tiempo en células MCF10A presentando incrementos a las 3, 6, 12 y 24 h y disminución a las 48 h tras la estimulación con leptina. En las células MCF-7, la expresión de α -SMA se mostró variable alcanzando un pico máximo a las 6 h. La localización subcelular de α -SMA es citoplasmática en células MCF10A y en células MCF-7 existe una localización citoplasmática y nuclear de α -SMA. Conclusión: Leptina promueve la expresión de α -SMA en células MCF10A alcanzando un pico máximo a las 24 h de exposición mientras que en células MCF-7 existe un pico máximo a las 6 h. La localización subcelular de α -SMA es citoplasmática en células MCF10A y predominantemente nuclear en células MCF-7.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama es originado por la proliferación acelerada y descontrolada de las células del epitelio glandular (1). Actualmente es la neoplasia más común en la población femenina a nivel mundial y de acuerdo con datos reportados por la OMS, en México ocupa el primer lugar dentro de los tipos de cáncer que originan la muerte en la mujer (2). Esta patología se presenta con mayor frecuencia en mujeres mayores de 25 años de edad y se ha asociado a varios factores de riesgo como el uso de anticonceptivos a base de estrógenos por más de cinco años, una menarca temprana (<12 años), menopausia tardía (>50 años), el no haber amamantado, mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2* y la obesidad (3,4). La obesidad es el resultado del desequilibrio crónico entre el consumo y gasto energético, en donde existe una acumulación excesiva de grasa corporal (5). Durante la obesidad existen altos niveles de la leptina la cual ha sido asociada a problemas de salud ellos el cáncer de mama (6).

Leptina es una proteína con un peso molecular de 16 kDa codificada por el gen *OB* localizado en el cromosoma 7, locus 31.3q y comprende una secuencia de 167 aminoácidos (7). Es una hormona sintetizada principalmente por el tejido adiposo y en menor cantidad por otros órganos como el estómago, placenta, músculo, células del sistema inmune y la glándula mamaria. Los niveles de leptina en circulación son proporcionales a la cantidad de tejido adiposo que exista. Fisiológicamente, leptina regula el balance de energía y la conducta alimenticia por medio de señales y acciones hipotalámicas (8). Las funciones que realiza leptina son llevadas a cabo mediante la unión a su receptor, del cual se han descrito seis isoformas (Ob-Ra, Ob-Rb, Ob-Rc, Ob-Rd, Ob-Re y Ob-Rf), en donde solo el Ob-Rb contiene la región denominada caja 2 que presenta tres tirosinas conservadas en su dominio citoplasmático correspondiente a las posiciones Y985, Y1077 y Y1138, necesarias para la activación de diversas vías de señalización como la vía JAK/STAT, PI3K/Akt y ERK 1/2 (9,10). Estudios *in vitro* han demostrado que leptina induce la proliferación y migración de las células de cáncer de mama MCF-7 por lo que se ha sugerido que esta proteína es una molécula primaria en la proliferación celular del cáncer de mama que resultan en una mayor tumorigenicidad y metástasis

de las células cancerosas (11). Además, se han reportado nuevos hallazgos sobre la participación de leptina en la progresión del cáncer de mama debido a que el tratamiento con leptina en las líneas celulares de cáncer de mama MCF-7, MDA-MB-231 y MDA-MB-468 induce el proceso de transición epitelio-mesenquimal (EMT) el cual está asociado con la progresión de tumores (12).

La EMT es un proceso biológico que confiere características fenotípicas a células epiteliales de células mesenquimales por medio de múltiples cambios bioquímicos y moleculares cuyo resultado son: incremento en la capacidad migratoria, invasiva, resistencia a la apoptosis y un aumento de la producción de componentes de la matriz extracelular (ECM) (13). Para que la EMT ocurra es necesaria la activación de factores de transcripción relacionados con esta transición, la expresión de proteínas específicas del citoesqueleto y de la superficie celular así como la producción de enzimas que degradan los componentes de la ECM. La EMT se presenta en procesos fisiológicos como la embriogénesis y la inflamación y en procesos patológicos como en la progresión del cáncer (14,15). Existen distintos marcadores que facilitan la identificación del fenotipo epitelial basándose en la expresión de proteínas como E-cadherina, ocludinas, claudinas y citoqueratinas epiteliales, entre otros (15,16). Sin embargo, también existen marcadores que permiten la identificación de células mesenquimales por ejemplo, la expresión de proteínas de fibroblastos específicos 1 (FSP1), Ncadherina, fibronectina, vimentina, colágeno I y actina alfa de músculo liso (α -SMA) (15,17).

α -SMA es una proteína con un peso molecular de 42 kDa (18). Se encuentra predominantemente en células de músculo liso como los miofibroblastos, los cuales son caracterizados como un tipo de células mesenquimales que poseen características similares a las de los fibroblastos y células del músculo liso (19). Fisiológicamente, los miofibroblastos desempeñan un papel muy importante durante la contracción celular, la inflamación, reparación y cicatrización de tejidos. Patológicamente, los miofibroblastos persisten evadiendo la apoptosis y generando a su vez la EMT de tipo invasivo en donde las células mesenquimales adoptan la capacidad de invadir y diseminarse dando como resultado el proceso de metástasis y con ello la progresión de tumores (20).

En cuanto a la regulación transcripcional de α -SMA se ha implicado al factor de transcripción de miocardina (MRTF), el cual fisiológicamente se encuentra en el citoplasma, pero cuando se produce una contracción en la célula en respuesta a alguna tensión mecánica esta interacción se disocia provocando la polimerización de actina, la translocación de MRTF al núcleo y en consecuencia estimula la activación del factor de respuesta a suero (SRF), este proceso activa a diversos genes incluyendo el gen de α -SMA (21,22). Se ha reportado que la expresión de α -SMA se relaciona con la progresión del cáncer de mama (20) y de acuerdo con diversas investigaciones esta relación se ha asociado con un mal pronóstico (23,24).

En este sentido, se ha demostrado que leptina desempeña un papel importante en la patogénesis del cáncer de mama y su progresión. Sin embargo no existen reportes en donde se observe el efecto de leptina en la expresión y localización subcelular de α -SMA durante la EMT en líneas celulares del epitelio glandular mamario tumoral y no tumoral por lo que los resultados de este estudio podrían brindar hallazgos que permitan dilucidar el papel de leptina sobre los niveles de expresión y localización subcelular de α -SMA durante la EMT y su asociación con la progresión tumoral.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales

La línea celular de epitelio no tumoral MCF10A se obtuvo de la ATCC® CRL-10317TM y la línea celular de cáncer de mama MCF-7 se obtuvo de la ATCC® HTB22TM. La leptina, el EGF, la hidrocortisona, el medio DMEM/F12 y el Fluoroshield con DAPI se obtuvieron de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA), el anticuerpo monoclonal de ratón anti-actina alfa de músculo liso (B4), el anticuerpo anti-ratón y el anticuerpo anti-actina se obtuvieron de Santa Cruz Biotechnology, Inc (Santa Cruz, CA), el anticuerpo Alexa Flour 568 se obtuvo de Molecular Probes by Life Technologies (Eugene, Oregon, USA), el anticuerpo GAPDH se obtuvo de Cell Signaling Technology (Danvers, MA, USA), el suero fetal bovino (SFB) de By Productos (Guadalajara, Jalisco, MX).

Cultivo celular

Se utilizaron las líneas celulares MCF10A y MCF-7 las cuales fueron cultivadas en medio DMEM/F12 (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) suplementados con 10% de SFB, 10 μ g/mL de insulina, 0.5 μ g/mL de hidrocortisona, 20 ng/mL de factor de crecimiento epidérmico recombinante (EGF) y 1 % de antibióticos y antimicóticos. Para mantener los cultivos se utilizó una incubadora con una

atmósfera al 5 % de CO₂ y 95 % de aire a una temperatura de 37°C. Las células fueron sembradas en cajas para cultivo celular de 60 mm y se cambió el medio de cultivo cada 48 h hasta que las células alcanzaron la confluencia deseada.

Estimulación celular

Los cultivos celulares confluentes MCF-7 y MCF10A crecieron en cajas de 60 mm, sometidas a supresión de SFB durante 4 h, con el fin de disminuir la actividad celular, posteriormente, las células se estimularon con 400 ng/ml de leptina a tiempos de 0, 3, 6, 12, 24 y 48 h; la estimulación se detuvo por aspiración del medio.

Extracción de Proteínas totales

Al término de los periodos de tratamiento con leptina, se agregó a cada caja 500 µl de buffer de lisis RIPA (50 mM HEPES, 150 mM NaCl, 1 mM EGTA, 100 mM NaF, 10 mM pirofosfato de sodio, 10 % glicerol, 1 % Tritón X-100, 1.5 mM MgCl₂, 0.1 % SDS y 1 mM PMSF) y se extrajo la solución para ser colocadas en tubos Eppendorf de 1.5 ml homogenizando 10 veces y se mantuvieron a una temperatura de 4°C. Posteriormente se centrifugó a 12,000 rpm durante 10 minutos a 4 °C para obtener las proteínas totales.

Western blot

Las proteínas fueron separadas mediante SDS-PAGE utilizando geles de poli(acrilamida) al 10 % y posteriormente se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa. La membrana fue bloqueada con leche descremada al 5 % durante 2 h, después se realizaron lavados con TBS-Tween 20 al 0.05 %, para después incubar con el anticuerpo primario anti- α -SMA B4 1:200 durante 12 h a 4°C. Posteriormente se realizaron lavados con TBS-Tween 20 al 0.05 % y después las membranas se incubaron con el anticuerpo secundario anti-ratón 1:5000 durante 2 h a temperatura ambiente y en agitación constante. Se utilizaron los anticuerpos anti-actina y anti-GAPDH 1:500 como control de carga. El revelado se realizó por quimioluminiscencia con el kit Immun-StarTM WesternCTM (BIO-RAD) en placas radiográficas (Kodak) y la intensidad relativa de las bandas de Western blot se determinó por medio de análisis densitométrico de las bandas empleando el software Image J.

Inmunofluorescencia

Los cubreobjetos se dejaron toda la noche en ácido sulfúrico al 20 %, después se esterilizaron con etanol al 96 % por 2 h. Posteriormente, se realizó un cultivo de células MCF10A y MCF-7 y se cosecharon sobre los cubreobjetos, se dejó crecer el cultivo durante 1-2 días hasta alcanzar una confluencia al 60 %, enseguida se realizó el protocolo de estimulación durante 0, 3, 6, 12, 24 y 48 h con 400 ng/ml de leptina. Al finalizar el tratamiento las células fueron fijadas y permeabilizadas con formaldehído al 36.38 %/Tritón X-100 0.5 % en PBS, se bloqueó con BSA 3 % y se incubó con el anticuerpo primario anti- α -SMA 1:100 por 2 h a temperatura ambiente y después con el anticuerpo secundario Alexa Fluor 568 1:400 durante 30 minutos a 37°C, se montaron los cubreobjetos en fluoroshield con DAPI y finalmente fueron visualizados en un microscopio de fluorescencia.

Análisis estadístico

Los experimentos se realizaron por triplicado y de manera independiente. Los resultados se expresaron como media \pm S.D. Los datos se examinaron mediante análisis de varianza (ANOVA), con la prueba de comparación múltiple de Dunnett para los cursos temporales. Finalmente, los resultados de los ensayos fueron graficados mediante el programa estadístico GraphPad Prism 5.0. tomando en cuenta como resultados significativos el valor de $p < 0.05$.

RESULTADOS

Leptina promueve la expresión de α -SMA en células MCF10A.

Para determinar los niveles de expresión de α -SMA en las células MCF10A se realizó la técnica de Western blot. Las células MCF10A expuestas a 400 ng/ml de leptina muestran incremento en la expresión de α -SMA a las 3, 6 y 12 h con un pico máximo a las 24 h, disminuyendo a las 48 h (Figura 1A). El análisis densitométrico y estadístico de la expresión de α -SMA muestra diferencias estadísticamente significativas en las condiciones de 12 y 24 h respecto al control, además se observa una disminución en los niveles de α -SMA a las 48 h (Figura 1B).

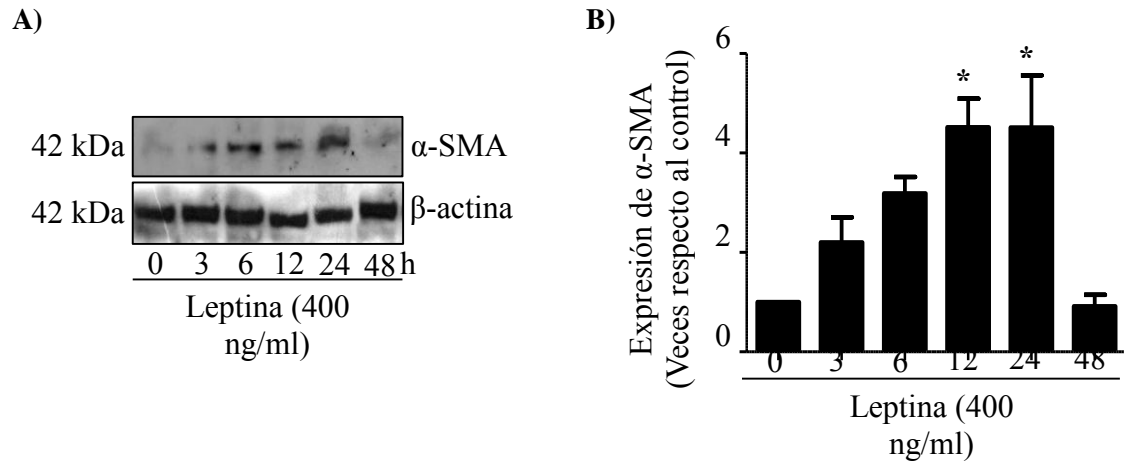


Figura 1. Expresión de α -SMA en la EMT inducida por leptina en células MCF10A. Curso-temporal de 0, 3, 6, 12, 24 y 48 h con 400 ng/ml de leptina. Panel A se muestran los niveles de expresión de α -SMA utilizando como control de carga Actina. Panel B gráfica correspondiente al análisis densitométrico y estadístico realizado a las bandas obtenidas en el Western blot de tres experimentos independientes. La significancia estadística fue calculada mediante ANOVA y la prueba de comparación múltiple de Dunnett. * $P < 0.05$. Barras de error indican SD.

α -SMA se localiza en el citoplasma durante la EMT inducida por leptina en células MCF10A.

Para determinar la localización subcelular de α -SMA en las células MCF10A se realizó la técnica de Inmunofluorescencia. Los resultados obtenidos muestran una localización citoplasmática de α -SMA en todas las condiciones mostrando también un aumento de expresión a las 3, 6, 12 y 24 h e interesantemente una disminución a las 48 h tras la estimulación con leptina (Figura 2).

La expresión de α -SMA tiene un pico máximo a las 6 h de exposición con leptina en células MCF-7.

Para determinar los niveles de expresión de α -SMA en las células MCF-7 se realizó la técnica de Western blot. Nuestros resultados muestran que en las células MCF-7 expuestas a 400 ng/ml de leptina existe una mayor expresión de la proteína α -SMA a las 6 h, disminuyendo a las 12 h respecto al control. Esto fue demostrado por medio densitometría (Figura 3A). En el análisis estadístico se encontró que la expresión de α -SMA tiene un pico máximo de expresión a las 6 h después del estímulo con leptina con diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo, se observa una disminución en los niveles de α -SMA a las 12 h (Figura 3B).

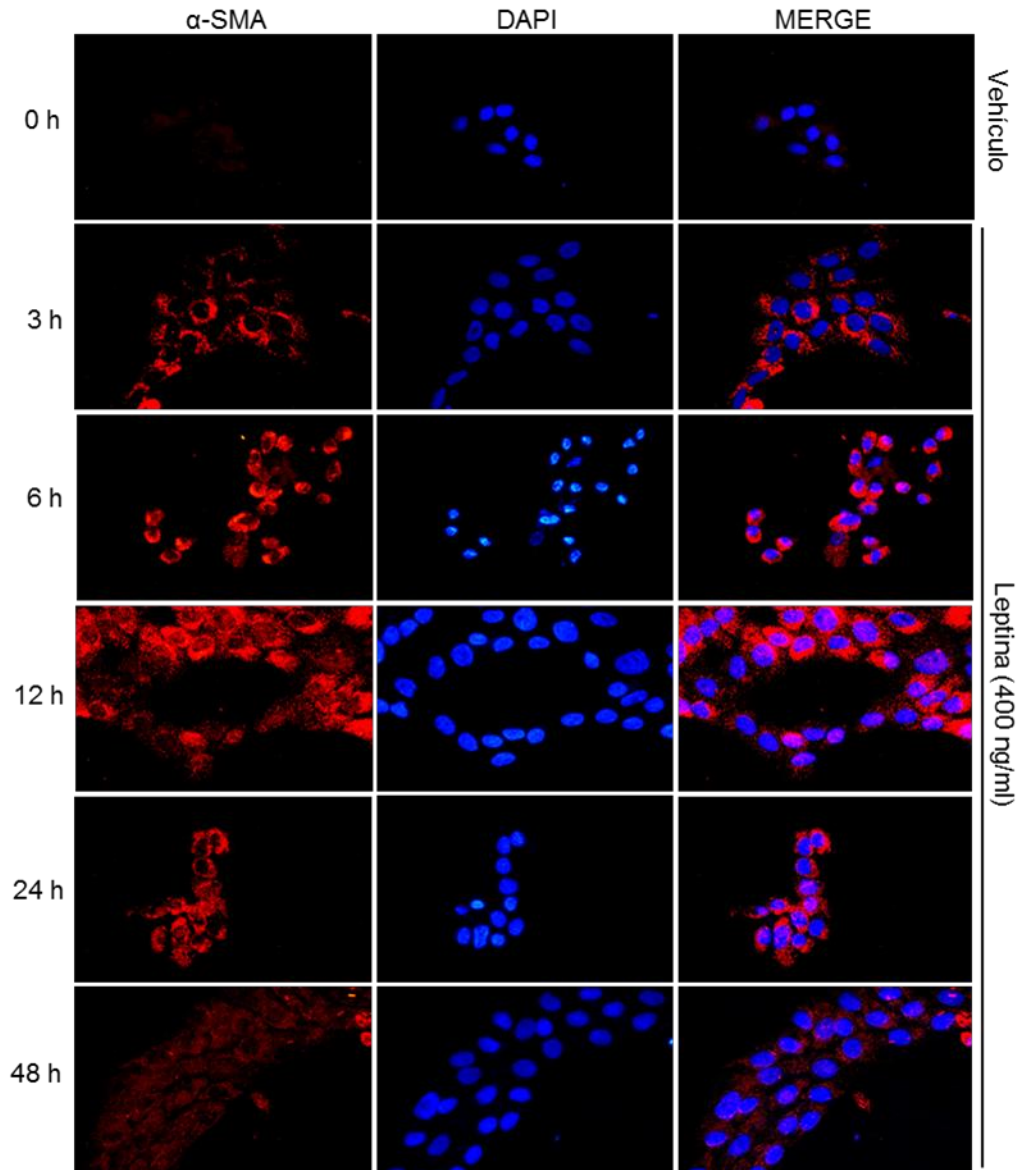


Figura 2. Localización subcelular de α -SMA durante la EMT inducida por leptina en células MCF10A. Curso-temporal de células MCF10A tratadas con 400 ng/ml de leptina durante 0, 3, 6, 12, 24 y 48 h. Se utilizó el anticuerpo primario anti- α -SMA 1:100 y un anticuerpo secundario acoplado a un fluoroforo (Alexa fluor 568) 1:400 montado en fluoroshield con DAPI. Imágenes representativas de tres experimentos independientes.

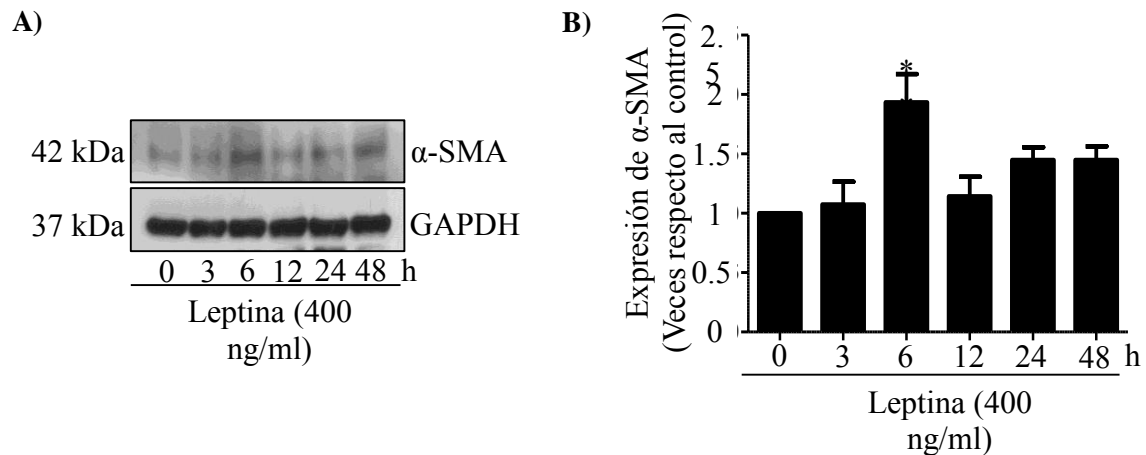


Figura 3. Expresión de α -SMA en la EMT inducida por leptina en células MCF-7. Curso-temporal de 0, 3, 6, 12, 24 y 48 h con 400 ng/ml de leptina. Panel A se muestran los niveles de expresión de α -SMA correspondientes a un Western blot. Panel B se muestra la gráfica correspondiente al análisis densitométrico y estadístico realizado a las bandas obtenidas en el Western blot. La expresión de α -SMA normalizado con GAPDH es el promedio de tres experimentos independientes comparados con el control. La significancia estadística fue calculada mediante ANOVA y la prueba de comparación múltiple de Dunnett. ** $P < 0.01$. Barras de error indican SD.

α -SMA se localiza en el citoplasma y núcleo durante la EMT inducida por leptina en células MCF-7. Para determinar la localización subcelular de α -SMA en las células MCF-7 se realizó la técnica de Inmunofluorescencia. Se observa una localización citoplasmática de α -SMA en las condiciones de 0, 3, 6 y 12 h, sin embargo a las 24 y 48 h se observa una localización nuclear de α -SMA. La expresión de la proteína es alta a las 0, 6, 24 y 48 h de exposición a leptina, pero a las 3 y 12 h se observa disminuida (Figura 4).

DISCUSIÓN

La EMT es un proceso biológico asociado con la progresión tumoral, metástasis y quimioresistencia en distintos tipos de cáncer. Se ha descrito que existen diversos factores que inducen la EMT y con base en la literatura, uno de los principales inductores es TGF- β . Se ha descrito que leptina, una hormona sintetizada por los adipocitos, es otro de los inductores de la EMT debido a que en estudios *in vitro* se ha reportado que induce la EMT en la línea celular de cáncer de mama MCF-7 (12). Por otra parte, antecedentes de nuestro grupo de trabajo demostró que la concentración de 400 ng/ml de leptina induce la EMT en las líneas celulares de epitelio mamario no tumoral MCF10A (25).

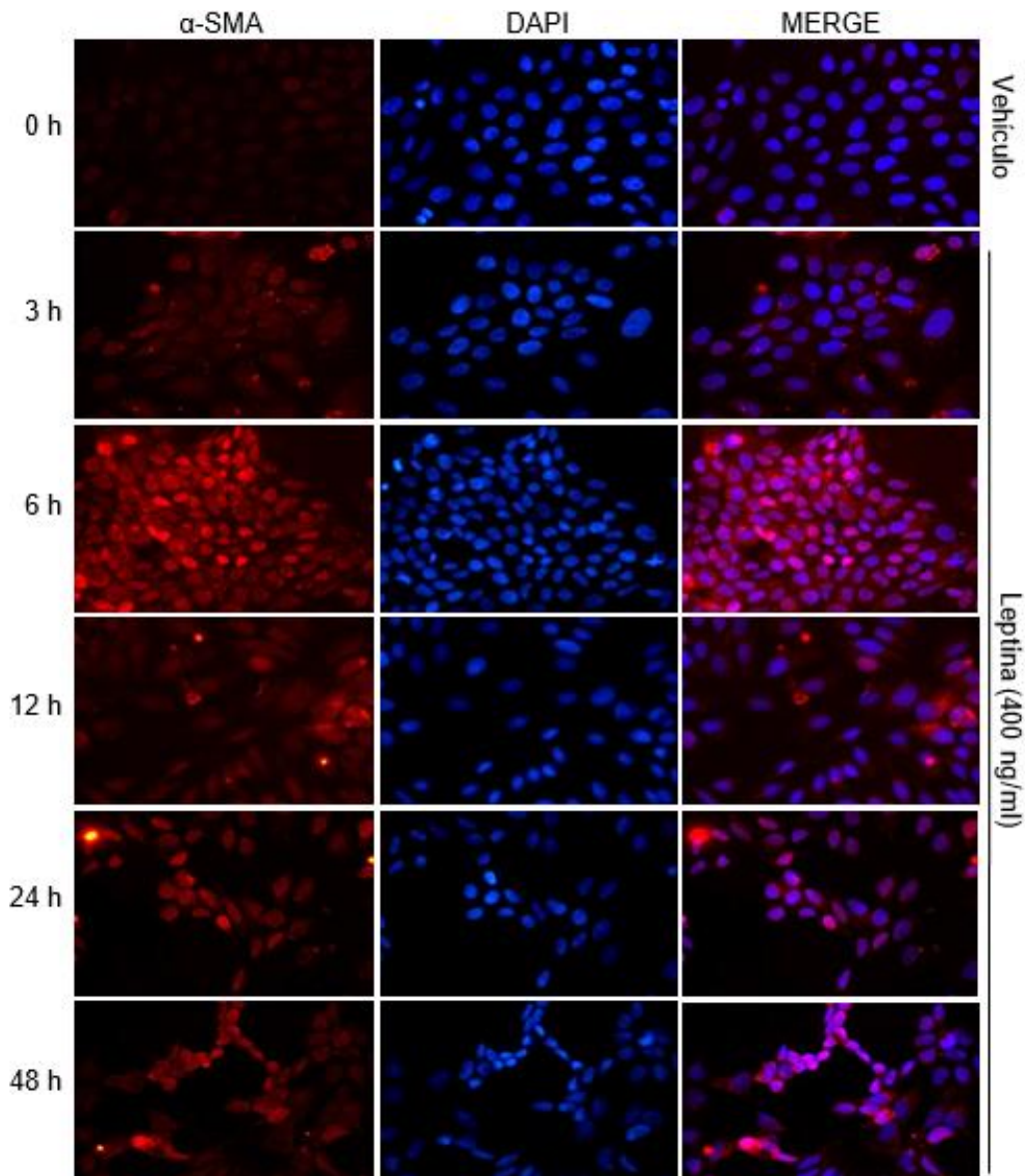


Figura 4. Localización subcelular de α -SMA durante la EMT inducida por leptina en células MCF-7. Curso-temporal de células MCF-7 tratadas con 400 ng/ml de leptina durante 0, 3, 6, 12, 24 y 48 h. Se utilizó el anticuerpo primario anti- α -SMA 1:100 y un anticuerpo secundario acoplado a un fluoróforo (Alexa fluor 568) 1:400 montado en fluoroshield con DAPI. Imágenes representativas de tres experimentos independientes.

Particularmente, en nuestro estudio se utilizaron células epiteliales mamarias no tumorales MCF10A y células de cáncer de mama MCF-7 como modelo de estudio. La utilización de ambas líneas celulares nos permiten esclarecer diferentes aspectos, el uso de las células MCF10A nos permite establecer el efecto directo de leptina sobre los niveles de expresión y localización subcelular de α -SMA en la EMT, mientras que los resultados obtenidos por las células MCF-7 nos sugiere que estos eventos podrían estar ocurriendo en una paciente con cáncer de mama *in situ* y con un trasfondo genético establecido.

α -SMA es una isoforma de actina que se encuentra en células de músculo liso y participa en la contracción muscular, sin embargo, su expresión se ha asociado con la migración e invasión de

células tumorales. Diversos estudios han relacionado la expresión de α -SMA con la progresión de distintos tipos de cáncer, incluyendo el cáncer de mama (20). Se ha reportado que los niveles de expresión del mRNA de α -SMA están involucrados durante la EMT en células de cáncer de pulmón PC14PE6 y al silenciar la expresión del mRNA de α -SMA observaron que reduce significativamente el potencial metastásico (26). Además, se ha demostrado que los niveles de expresión de α -SMA se encuentran elevados en células MCF10A durante la EMT inducida por la expresión del oncogén *Dbl* el cual modula la actividad de pequeñas GTPasas de la familia Rho a través del intercambio de GDP a GTP (27).

En nuestro estudio observamos que leptina induce el incremento en los niveles de expresión de α -SMA de manera progresiva desde las 3, 6, y 12 h con un pico máximo a las 24 h respecto al control. Sin embargo, a las 48 h de exposición con leptina se observa una disminución en los niveles de expresión de α -SMA, estos resultados podrían estar asociados a una retroalimentación negativa que realiza leptina mediante la expresión de SOCS3, una proteína que se muestra como un regulador negativo de la señalización de leptina. Este proceso inducido por leptina implica la inhibición de la fosforilación de tirosina del receptor de leptina sin afectar la expresión de la superficie del receptor. SOCS3 inhibe la señalización por la unión a proteínas JAK fosforilados (28) por lo que el tiempo de exposición puede estar directamente relacionado con la activación de SOCS3 aunque se necesitan realizar más investigaciones para entender el mecanismo biológico entre leptina, SOCS3 y α -SMA en células MCF10A.

Por otra parte, los resultados obtenidos en la línea celular MCF-7 muestran variaciones en los niveles de expresión de α -SMA teniendo un pico máximo en la condición de 6 h, pero a las 12 h de exposición con leptina se observa una disminución en la expresión de esta proteína, lo cual podría deberse a que se ha propuesto que la EMT puede ser transitoria y reversible, además de que también es posible que solo ocurra en ciertas subpoblaciones celulares (14).

Un estudio reciente ha demostrado que los niveles de expresión de α -SMA están relacionados con la proliferación celular, la migración y la invasión en células MCF-7. Interesantemente se observa una expresión basal de α -SMA en la condición control sin estímulo en esta línea celular, en el presente trabajo observamos que hay expresión basal de α -SMA en la condición control. Este hallazgo puede atribuirse que al ser una línea celular tumoral probablemente existan mutaciones o una mayor activación de factores de transcripción que regulan la expresión de α -SMA como MRTF o el SRF (29). Otro estudio muestra que los niveles de expresión de α -SMA se encuentran elevados en células MCF-7 que han sido co-cultivadas con células madre derivadas de tejido adiposo (ASC) que secretan el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y que a su vez, estas inducen la EMT promoviendo la migración e invasión celular (30). Todos estos datos muestran que los niveles de expresión de α -SMA en células MCF-7 contribuyen a una mayor capacidad migratoria e invasiva, misma que es reflejada en un mal pronóstico. Los reportes de la EMT inducida por leptina y nuestros hallazgos pueden sugerir que los niveles de expresión de α -SMA inducida por leptina en células MCF-7 podrían estar asociados a mayor capacidad migratoria e invasiva, aunque se necesitan ensayos adicionales para evaluar dicha hipótesis.

Una vez que existe expresión de las proteínas, estas se localizan en diferentes compartimentos celulares donde ejercen funciones específicas. En cuanto a la localización subcelular de α -SMA, nuestros resultados muestran una localización citoplasmática en todas las condiciones a diferencia del control en donde no hay expresión de α -SMA en células MCF10A. Además se observó una mayor expresión y localización citoplasmática en las condiciones de 3, 6, 12 y 24 h, interesantemente observamos una disminución en la condición de 48 h. Por otro lado, los resultados obtenidos de la línea celular MCF-7 muestran una localización citoplasmática de α -SMA hasta las 12 h, en contraste con 24 y 48 h de exposición con leptina donde existe una localización nuclear de α -SMA. En la actualidad no hay reportes donde se establezca la localización nuclear y el papel potencial de α -SMA en el núcleo, sin embargo, se han descrito proteínas como FAK, una proteína que participa en la formación de adhesiones focales que se puede encontrar en el núcleo, asociado a otras proteínas como Runx1 regulando la expresión de proteínas como IGFBP3 y la supervivencia celular (31).

Por otra parte, en nuestros resultados se observa que la expresión de la proteína α -SMA en las células MCF-7 es variable con un pico máximo a las 6 h de exposición con leptina. Sin embargo a las 3 y 12 h se observa disminuida. Estos hallazgos podrían estar relacionados con la plasticidad celular de las células MCF10A y MCF-7 (32). α -SMA contribuye a la tensión, el mantenimiento de la

forma celular y el movimiento mecánico generado en células mesenquimales por lo que la dinámica de las estructuras del citoesqueleto afectadas por la expresión de α -SMA, por lo que podría ser esencial para la adquisición de un fenotipo mesenquimal en células MCF10A y MCF-7 inducida por leptina (33).

CONCLUSIONES

En este estudio se reporta que la leptina induce la expresión de α -SMA en células de epitelio mamario no tumoral MCF10A hasta las 24 h, pero a 48 h de exposición disminuye considerablemente, lo que podría deberse por un mecanismo de retroalimentación negativa mediante SOCS3. Por otra parte, la exposición a leptina en el curso temporal de células MCF-7 induce niveles variables de expresión de α -SMA teniendo un pico máximo en la condición de 6 h y una disminución en la condición de 12 h, esto podría atribuirse a que la EMT puede ser transitoria y reversible, también a que es posible que la EMT ocurra únicamente en algunas subpoblaciones de células. Nuestros resultados sugieren que los niveles de expresión de α -SMA inducida por leptina en células MCF-7 podrían estar asociados a mayor capacidad migratoria e invasiva. Además, la localización subcelular de la proteína α -SMA es citoplasmática en las células MCF10A contribuyendo en el rearrreglo del citoesqueleto lo cual implicaría que α -SMA este asociado al fenotipo mesenquimal y en la línea celular MCF-7 existe una localización subcelular citoplasmática y nuclear aunque la función y localización nuclear de α -SMA no ha sido reportada.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gonzalez J, Ugalde C, "La glándula mamaria, embriología, histología, anatomía y una de sus principales patologías, el cáncer de mama",. *Rev Medica Costa Rica y Centroamerica LXIX*, Vol. 2, 602, 2012, pp. 317–20.
2. Desantis C, Lin C, Mariotto A, Siegel R, Stein K, Kramer J, *et al*, "Cancer treatment and survivorship statistics, 2014",. *CA Cancer J Clin*, Vol. 0, 0, 2014, pp. 1–20.
3. De la Vara E, Suárez L, Ángeles A, Torres G, Lazcano E, "Tendencias de la mortalidad por cáncer de mama en México, 1980-2009",. *Salud Publica de México*, Vol. 53, 5, 2011, pp. 385-393.
4. Skol A, Sasaki M, Onel K, "The genetics of breast cancer risk in the post-genome era: thoughts on study design to move past *BRCA* and towards clinical relevance",. *Breast Cancer Research*, Vol. 18, 1, 2016, pp. 1-8.
5. Kopelman P, "Obesity as a medical problem",. *Nature Obesity Review*, Vol. 404, 2000, pp. 635–643.
6. Grossmann M, Ray A, Nkhata K, Malakhov D, Rogozina O, Dogan S, *et al*, "Obesity and breast cancer: status of leptin and adiponectin in pathological processes",. *Cancer Metastasis Rev*, Vol. 29, 2010, pp. 641–653.
7. Ray A. "Adipokine leptin in obesity-related pathology of breast cancer",. *Journal of Biosciences*, Vol. 37, 2, 2012, pp. 289–294.
8. Denver R, Bonett R, Boorse G, "Evolution of leptin structure and function",. *Neuroendocrinology*, Vol. 94, 1, 2011, pp. 21–38.
9. Wauman J, Tavernier J, "Leptin receptor signaling: pathways to leptin resistance",. *Frontiers in Bioscience*, Vol. 16, 2011, pp. 2771–2793.
10. Procaccini C, Lourenco E, Matarese G, La Cava A, "Leptin signalig: A key pathway in immune responses",. *Curr Signal Transduct Ther*, Vol. 4, 1, 2009, pp. 22–30.
11. Yuan H, Sun K, Yu K, "Leptin promotes the proliferation and migration of human breast cancer through the extracellular-signal regulated kinase pathway",. *Molecular Medicine Reports*, Vol. 9, 1, 2014, pp. 350–354.
12. Yan D, Avtanski D, Saxena N, Sharma D, "Leptin-induced epithelial-mesenchymal transition in breast cancer cells requires β -catenin activation via Akt/GSK3- and MTA1/Wnt1 protein-dependent pathways",. *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 287, 11, 2012, pp. 8598–8612.
13. Talbot L, Bhattacharya S, Kuo P, "Epithelial-mesenchymal transition, the tumor microenvironment, and metastatic behavior of epithelial malignancies",. *International Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 3, 2, 2012, pp. 117–136.

14. Thiery J, "Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression",. *Nature Reviews Cancer*, Vol. 2, 6, 2002, pp. 442–454.
15. Kalluri R, Weinberg R, "The basics of epithelial-mesenchymal transition",. *Journal of Clinical Investigation*, Vol. 119, 6, 2009, pp. 1420–1428.
16. Foroni C, Broggin M, Generali D, Damia G, "Epithelial-mesenchymal transition and breast cancer: Role, molecular mechanisms and clinical impact ",. *Cancer Treatment Reviews*, Vol. 38, 6, 2012, pp. 689–697.
17. Zeisberg M, Neilson E, "Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions",. *The Journal of Clinical Investigation*, Vol. 119, 6, 2009, pp. 1429–1437.
18. Cherng S, Young J, Ma H, "Alpha-smooth muscle actin (α -SMA)",. *The Journal of American Science*, Vol. 4, 4, 2008, pp. 7–9.
19. Chaponnier C, Gabbiani G, "Pathological situations characterized by altered actin isoform expression",. *Journal of Pathology*, Vol. 204, 4, 2004, pp. 386–395.
20. Darby I, Zakuan N, Billet F, Desmuylière A, "The myofibroblast , a key cell in normal and pathological tissue repair",. *Cellular and Molecular Life Sciences*, Vol. 73, 6, 2016, pp. 1145–1157.
21. Small E, "The Actin-MRTF-SRF gene regulatory axis and myofibroblast differentiation",. *Journal of Cardiovascular Translational Research*, Vol. 5, 6, 2012, pp. 794–804.
22. Huang X, Yang N, Fiore V, Barker H, Sun Y, Morris SW, *et al*, "Matrix stiffness-induced myofibroblast differentiation is mediated by intrinsic mechanotransduction",. *American Journal Respiratory Cell and Molecular Biology*, Vol. 47, 3, 2012, pp. 340–348.
23. Soon P, Kim E, Pon C, Gill A, Moore K, Spillane A, *et al*, "Breast cancer-associated fibroblasts induce epithelial-to-mesenchymal transition in breast cancer cells",. *Endocrine-Related Cancer*, Vol. 20, 1, 2013, pp. 1–12.
24. Song Y, Warncke C, Choi S, Choi S, Chiou A, Ling L, *et al*, "Breast cancer-derived extracellular vesicles stimulate myofibroblast differentiation and pro-angiogenic behavior of adipose stem cell",. *Matrix Biology*, 2017, pp. 1-40.
25. Villanueva A, Zuñiga D, Dena J, Castañeda E, Calixto M, Mendoza M, *et al*, "Leptin induces partial epithelial-mesenchymal transition in a FAK-ERK dependent pathway in MCF10A mammary non-tumorigenic cells",. *Int J Clin Exp Pathol*, Vol. 10, 9, 2017, pp. 1-9.
26. Lee H, Park Y, Lee S, Cho H, Kim D, Lee J, *et al*, "Alpha-smooth muscle actin (ACTA2) is required for metastatic potential of human lung adenocarcinoma",. *Clinical Cancer Research*, Vol. 19, 21, 2013, pp. 5879–5890.
27. Vanni C, Ognibene M, Finetti F, Mancini P, Cabodi S, Segalerba D, *et al*, "Dbl oncogene expression in MCF-10 A epithelial cells disrupts mammary acinar architecture, induces EMT and angiogenic factor secretion",. *Cell Cycle*, Vol. 14, 9, 2015, pp. 1426-1437.
28. Artac M, Altundag K, "Leptin and breast cancer: an overview",. *Med Oncol*, Vol. 29, 3, 2012, pp. 1510–1514.
29. Zhao X, Zou Y, Gu Q, Zhao G, Gray H, Pfeffer L, *et al*, "Lentiviral vector mediated claudin1 silencing inhibits epithelial to mesenchymal transition in breast cancer cells",. *Viruses*, Vol. 7, 6, 2015, pp. 2965–2979.
30. Devarajan E, Song Y, Krishnappa S, Alt E, "Epithelial–mesenchymal transition in breast cancer lines is mediated through PDGF-D released by tissue-resident stem cells",. *Int J Cancer*, Vol. 131, 5, 2012, pp. 1023-1031.
31. Canel M, Byron A, Sims A, Cartier J, Patel H, Frame M, *et al*, "Nuclear FAK and Runx1 cooperate to regulate IGFBP3 , cell cycle progression and tumor growth",. *American Association for Cancer Research*, 2017, pp. 1-36.
32. Dueñas V, Gutierrez J, Rodríguez F, Jiménez R, Cobaleda C, "The role of cellular plasticity in cancer development",. *Curr Med Chem*, Vol. 16, 28, 2009, pp. 3676–3685.
33. Lambrechts A, Troys M, Ampe C, "The actin cytoskeleton in normal and pathological cell motility",. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, Vol. 36, 10, 2004, pp. 1890–1909.

EFFECTO PROTECTOR DEL SULFATO DE DEHIDROEPIANDROSTERONA CONTRA DAÑO AL SISTEMA GABAÉRGICO INDUCIDO POR HIPOXIA QUÍMICA EN EL ORGANISMO *CAENORHABDITIS ELEGANS*

Manuel de Jesus Gallegos-Saucedo¹, Miguel Antonio Maldonado-Rubio², Gabriela Camargo-Hernández³, Araceli Castillo-Romero⁴, Rafael Cortés-Zárate⁴, Mario Alberto Ramirez-Herrera⁵, Annie Riera-Leal⁶, Ana Laura Pereira Suárez⁵, Abel Hernández Chávez⁵, Jacinto Bañuelos Pineda³ y Leonardo Hernandez-Hernandez⁵

¹Doctorado en Farmacología, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara, ²Laboratorio de Neurofisiología, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, ³Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara, ⁴Departamento de Microbiología y Patología, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara, ⁵Departamento de Fisiología, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara, ⁶Doctorado en Ciencias Biomédicas, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara. qfbmanuelgs@hotmail.com; leohhdez@hotmail.com.

RESUMEN

La hipoxia provoca procesos patofisiológicos que afectan al sistema nervioso. Particularmente, postulamos que el sistema GABAérgico es sensible a esta. Los neuroesteroides podrían mejorar la resistencia a la hipoxia. Así, probando al Sulfato de Dehidroepiandrosterona (DHEAS) podríamos obtener información sobre una posible estrategia terapéutica. Implementamos un modelo de hipoxia química con Sulfito sódico (Na_2SO_3) en *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*), cuya respuesta a la hipoxia involucra vías y procesos celulares conservados en mamíferos. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto del DHEAS sobre el daño al sistema GABAérgico asociado a hipoxia en el *C. elegans*.

C. elegans adultos sincronizados de las cepas N2 (Wild-Type) y EG1285 (neuronas GABAérgicas con GFP) se cultivaron en placas con agar NGM con *E. coli* OP50 (NGM-OP50) como alimento. Establecimos un grupo no tratado (CTL), un grupo hipóxico (HPX) y un grupo hipóxico con DHEAS (HPX+DHEAS). Para la hipoxia se expusieron los gusanos a Na_2SO_3 (16h/20°C), con un reposo posterior (24h/20°C) en NGM-OP50. En gusanos N2 se examinó la respuesta al toque a la nariz (TNa), relacionada con el sistema GABAérgico. Gusanos N2 y EG1285 fueron preparados para tomar imágenes de microscopía epifluorescente y de Nomarski.

La necrosis celular en la faringe (NCF), característica de la hipoxia, fue severa en el 80% de los gusanos HPX y moderada el resto. Con DHEAS la NCF fue moderada y leve. La respuesta de encogimiento después del TNa (RE-TNa) se presentó en el grupo HPX en el 40% de los ensayos, mientras que en el grupo HPX+DHEAS, la RE-TNa alcanzo el 14%. Con la cepa EG1285, el daño axonal en neuronas GABAérgicas se presentaron el 80% de los individuos del grupo HPX, y en el grupo HPX+DHEAS solo en el 50%.

El DHEAS redujo la NCF y el daño inducido por Hipoxia en neuronas GABAérgicas.

INTRODUCCIÓN.

Los niveles demasiado bajos de oxígeno para sustentar las funciones fisiológicas normales o hipoxia suceden en un gran número de procesos fisiológicos y patofisiológicos particularmente, puede causar severa disfunción del sistema nervioso central [1-4]. Hemos encontrado que el sistema GABAérgico, es especialmente sensible a diferentes tipos de estrés ambiental y que su disfunción altera la respuesta adaptativa a estos estímulos deletéreos [5], por lo que postulamos que el sistema GABAérgico es sensible a la hipoxia. Se han buscado terapias que mejoran la resistencia a la hipoxia, así como en problemas derivados de la deficiente oxigenación en el SNC. En este aspecto, los esteroides neuroactivos han mostrado conferir protección contra algunos procesos hipóxicos en mamíferos [6, 7], sin embargo, a nivel celular se desconocen los mecanismos de acción por los que podría conferir protección contra el daño inducido por hipoxia, toda vez que la respuesta celular a la hipoxia no ha sido del todo aclarada. En este sentido, se vuelve relevante investigar el fundamento celular y genético de la respuesta a la hipoxia y, avanzar en nuestra comprensión de como los animales se adaptan a niveles cambiantes de oxígeno durante el desarrollo, la homeostasis y la enfermedad. En este trabajo, empleamos al organismo modelo *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*)

para establecer un modelo de hipoxia. La complejidad celular y la conservación de vías de la enfermedad entre *C. elegans* y organismos superiores, junto con la simplicidad y el costo-beneficio del cultivo, lo hacen un efectivo modelo *in vivo* si la enfermedad puede ser definida sobre una base molecular [8]. La respuesta hipóxica del *C. elegans* involucran redes regulatorias y procesos celulares que están conservados en mamíferos [9]. Además, la actividad GABAérgica en *C. elegans* se centra en 26 neuronas [10] que actúan en la unión neuromuscular, por lo que la actividad GABAérgica es posible a través de la observación de conductas motoras estereotipadas [11]. Asimismo, se dispone de cepas transgénicas con neuronas GABAérgicas marcadas con Proteína verde fluorescente. Empleamos un modelo de hipoxia química con Sulfito de Sodio en *C. elegans*, que emula los procesos de hipoxia física y por consiguiente simula también el ambiente hipóxico y causa los daños relacionados con la hipoxia en animales y células. Así, esperamos que al probar al neuroesteroide Sulfato de Dehidroepiandrosterona (DHEAS) en este modelo, obtengamos información predictiva de la interacción droga-blanco y valide una posible estrategia terapéutica. Además, nos permitirá el estudio de algunos procesos biológicos y sus mecanismos moleculares que regulan la homeostasis de oxígeno.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron nematodos *C. elegans* adultos sincronizados de la cepa N2 del tipo Bristol (Wild type) y de la cepa transgénica EG1285 lin-15(n765ts) oxls12 [Punc-47::GFP NTX, EK L15 (lin-15(+)) X, adquiridas en el Caenorhabditis Genetics Center (Minneapolis, MN, EUA). Fueron cultivados en placas de agar-NGM alimentados con la bacteria OP50-1 a 20°C (NGM-OP50) y mantenidos bajo los protocolos estándares para este organismo modelo [8]. Para este trabajo, establecimos tres grupos experimentales: un grupo no tratado (CTL), un grupo hipóxico (HPX) y un grupo hipóxico con DHEAS (HPX+DHEAS). El modelo de hipoxia se indujo de acuerdo a Jiang y colaboradores [12] exponiendo a los gusanos a Sulfito de Sodio (Na_2SO_3) por un periodo de 16h a 20°C, posteriormente se les permitió reposar por 24h a 20°C en placas NGM-OP50.

Protocolo de exposición

Para la exposición de los grupos de nematodos a Na_2SO_3 y/o al sulfato de Dehidroepiandrosterona (DHEAS) se prepararán soluciones de incubación en buffer M9. En placas de 24 pocillos se transfirieron 30 gusanos a cada pocillo con un ml de solución de incubación. Las concentraciones finales de las soluciones de incubación fueron de 1mg/L para el Na_2SO_3 y de 100 μM para el DHEAS. En los grupos control, los gusanos se mantendrán en buffer M9 sin SS o DHEAS.

Ensayos de Conducta

Después de aplicar los protocolos de exposición en *C. elegans* de la cepa N2 Bristol, se examinó la conducta motora estereotipada del *C. elegans* de Respuesta al toque de la probóscide (relacionada con el sistema de neurotransmisión GABAérgico) que se evoca al tocar la nariz del nematodo con un pelo de ceja unido a un palillo de dientes [13, 14]. Se registró la respuesta normal, la respuesta anormal de encogimiento y la falta de respuesta.

Ensayos con Microscopia

Después de los protocolos de exposición, los gusanos se montarán sobre una almohadilla de agar al 3% (0.5 mm de grosor) conteniendo Azida de sodio 40 mM, sobre un portaobjetos, y cubiertos con cubreobjetos. Usaremos un microscopio óptico para obtener imágenes de contraste diferencial de interferencia (Nomarski) y de fluorescencia. En la cepa N2 Bristol se buscó la presencia de células necróticas hinchadas en la faringe, que se observan cuando el oxígeno es escaso [15]. Luego se analizó la degeneración axonal y la pérdida neuronal en la neurona GABAérgicas en gusanos de la cepa EG1285 los cambios en los axones de la cepa transgénicas EG8776, que expresa GFP específicamente en neuronas GABAérgicas, de acuerdo al método descrito por Kramer et al [16]. Las imágenes de microscopia Nomarski y de epifluorescencia se adquirirán a los mismos parámetros de exposición usando el objetivo 20x en un microscopio equipado con una cámara digital.

RESULTADOS

Con el fin de confirmar la inducción de la hipoxia, una vez que se sometieron los grupos experimentales a su tratamiento respectivo, En la cepa N2 Bristol se buscó la presencia de células necróticas hinchadas en la faringe, que se observan cuando el oxígeno es escaso [15]. De este modo, En el grupo HPX se observó necrosis celular en la faringe severa y moderada en el 80% y 20

% de los individuos respectivamente. Por otro lado, el tratamiento con DHEAS previno los daños hipóxicos puesto que la necrosis celular en la faringe fue vista como moderada en el 60% y leve el 40% de los individuos del grupo HPX+DHEAS (Figura 1).

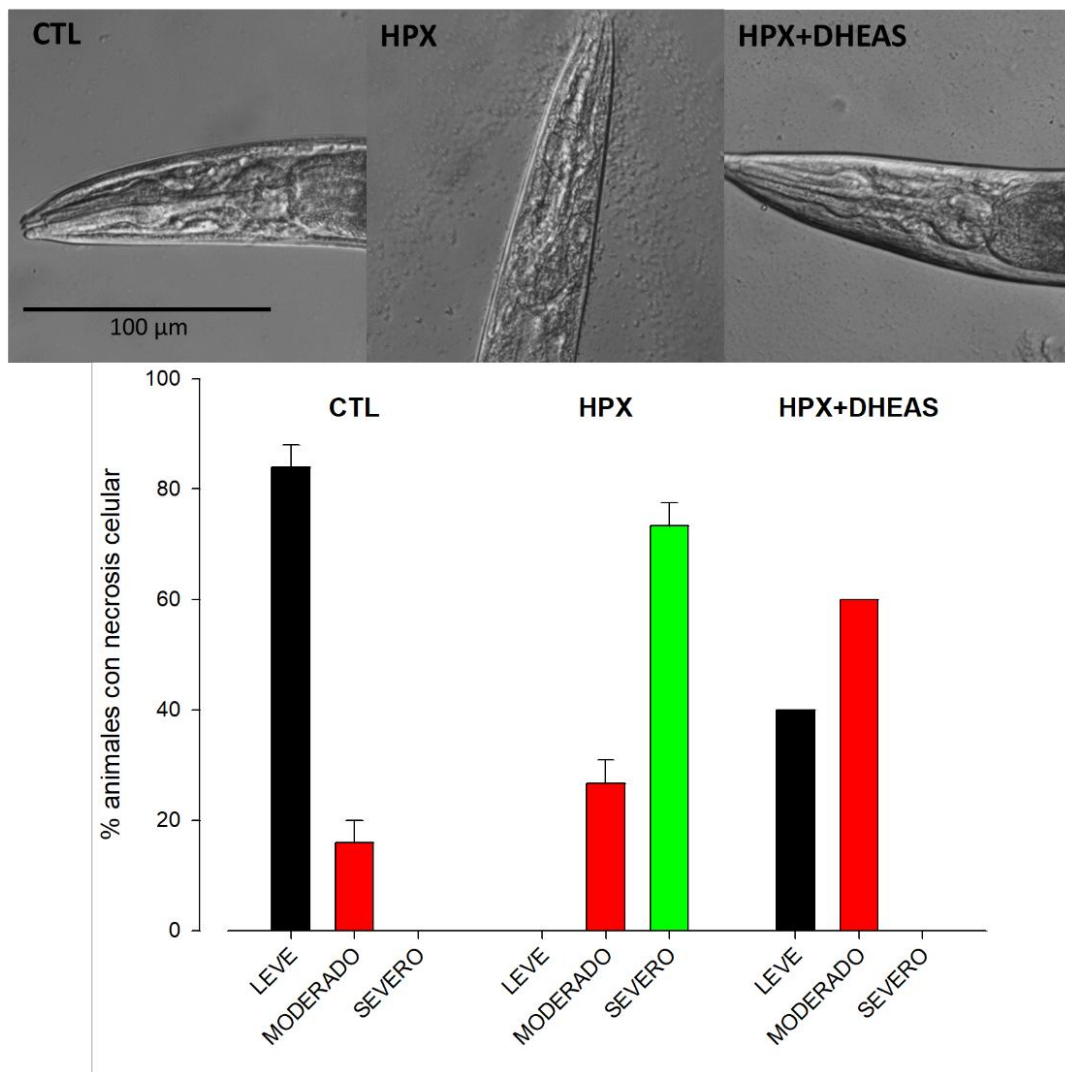


Figura 1. Presencia de Necrosis Celular en la Faringe después de los tratamientos experimentales

En el ensayo al toque de la nariz, la respuesta normal (movimiento en reversa, seguido de una curva ventral profunda y un cambio de 180 ° en la dirección de la locomoción[17]) del grupo HPX se redujo significativamente al 60% de los ensayos, y al mismo tiempo aumento la respuesta de encogimiento hasta el 35% de los ensayos, lo cual fue significativamente diferente con respecto al CTL, lo que demuestra que la hipoxia generó una deficiencia locomotora característica de la disfunción del Sistema GABAérgico. Esta disfunción fue mucho menor en el grupo HPX+DHEAS, donde la respuesta de encogimiento no alcanzo el 3% y la respuesta normal no fue significativamente distinto al CTL (Figura 2).

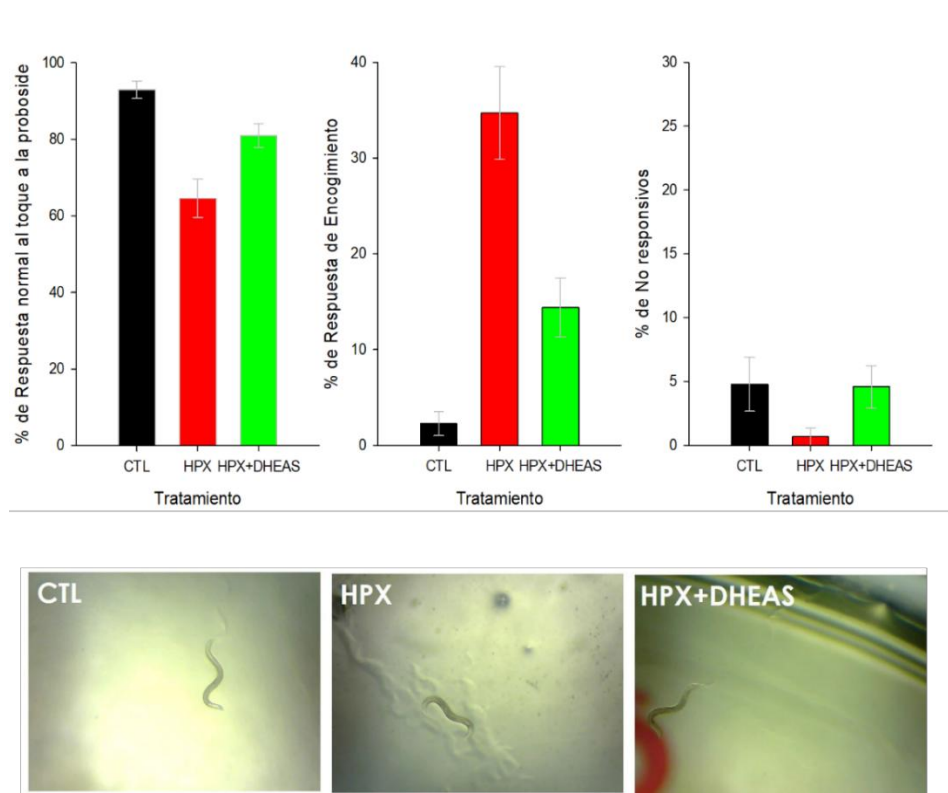


Figura 2. Ensayo de Respuesta al toque a la nariz en los grupos experimentales.

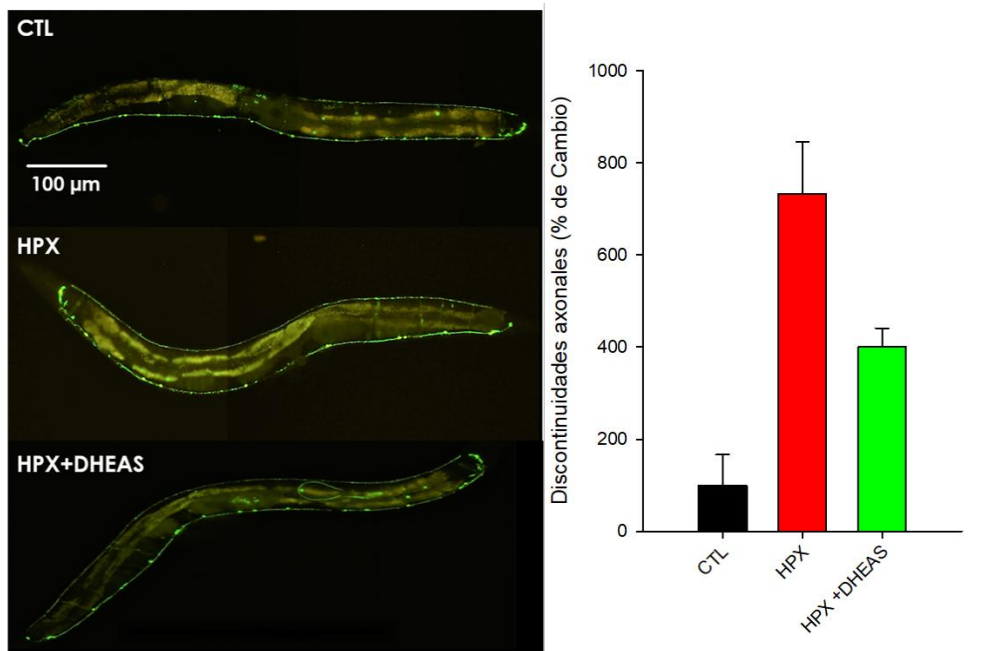


Figura 3. Observación de degeneración en el sistema GABAérgico tras los tratamientos en la cepa transgénica EG1285

Con la cepa EG1285, En el grupo HPX se observó que las interrupciones axonales de las neuronas GABAérgicas aumentaron en un 600% con respecto al control, lo cual indica daño axonal

significativo. También se observó daño en el grupo HPX+DHEAS pero, este fue el 50% del grupo HPX (Figura 3).

CONCLUSIONES

Tomando en conjunto estos resultados concluimos que la Hipoxia induce daños en las estructuras neurales y en la función del sistema GABAérgico del *C. elegans* y que El DHEAS previno la necrosis celular en la faringe, y el daño estructural y funcional inducido por Hipoxia en el sistema GABAérgico.

BIBLIOGRAFIA

1. Bergamasco, B., et al., *Neonatal hypoxia and epileptic risk: a clinical prospective study*. Epilepsia, 1984. 25(2): p. 131-6.
2. Brown, J.M., *Exploiting the hypoxic cancer cell: mechanisms and therapeutic strategies*. Mol Med Today, 2000. 6(4): p. 157-62.
3. Hallett, M., *Physiology of human posthypoxic myoclonus*. Mov Disord, 2000. 15 Suppl 1: p. 8-13.
4. Low, J.A., et al., *The relationship between perinatal hypoxia and newborn encephalopathy*. Am J Obstet Gynecol, 1985. 152(3): p. 256-60.
5. Camargo, G., et al., *Inactivation of GABAA receptor is related to heat shock stress response in organism model Caenorhabditis elegans*. Cell Stress Chaperones, 2016. 21(5): p. 763-72.
6. Kaasik, A., et al., *Dehydroepiandrosterone sulphate prevents oxygen-glucose deprivation-induced injury in cerebellar granule cell culture*. Neuroscience, 2001. 102(2): p. 427-32.
7. Lapchak, P.A., et al., *Dehydroepiandrosterone sulfate is neuroprotective in a reversible spinal cord ischemia model: possible involvement of GABA(A) receptors*. Stroke, 2000. 31(8): p. 1953-6; discussion 1957.
8. Brenner, S., *THE GENETICS OF CAENORHABDITIS ELEGANS*. Genetics, 1974. 77(1): p. 71-94.
9. Powell-Coffman, J.A., *Hypoxia signaling and resistance in C. elegans*. Trends Endocrinol Metab, 2010. 21(7): p. 435-40.
10. White, J.G., et al., *The Structure of the Nervous System of the Nematode Caenorhabditis elegans* Philos Trans R S London B Biol Sci, 1986. 314(1165): p. 1-340.
11. Jorgensen, E.M., *Gaba*. WormBook, 2005: p. 1-13.
12. Jiang, B., et al., *Sodium sulfite is a potential hypoxia inducer that mimics hypoxic stress in Caenorhabditis elegans*. J Biol Inorg Chem, 2011. 16(2): p. 267-74.
13. Chalfie, M. and J. Sulston, *Developmental genetics of the mechanosensory neurons of Caenorhabditis elegans*. Dev Biol, 1981. 82(2): p. 358-70.
14. Kaplan, J.M. and H.R. Horvitz, *A dual mechanosensory and chemosensory neuron in Caenorhabditis elegans*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1993. 90(6): p. 2227-31.
15. Jiang, H., R. Guo, and J.A. Powell-Coffman, *The Caenorhabditis elegans hif-1 gene encodes a bHLH-PAS protein that is required for adaptation to hypoxia*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001. 98(14): p. 7916-21.
16. Kraemer, B.C., et al., *Neurodegeneration and defective neurotransmission in a Caenorhabditis elegans model of tauopathy*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003. 100(17): p. 9980-5.
17. Pirri, J.K. and M.J. Alkema, *The neuroethology of C. elegans escape*. Curr Opin Neurobiol, 2012. 22(2): p. 187-93.

ESTUDIO DEL PODER REDUCTOR DE EXTRACTOS VEGETALES EN LA REDUCCIÓN DE IONES DE METALES DE TRANSICIÓN COMO COBRE, PLATA Y ZINC.

Lidia Meléndez Balbuena, Dulce María Torres Mentado, Marta Lobo Sánchez¹ Ismael Soto López, Guadalupe López Olivares, Alejandra Castro Lino.

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Imbalbuena@hotmail.com

RESUMEN

En los últimos años se ha incrementado el interés en la búsqueda de antioxidantes naturales, generalmente constituidos por mezclas de compuestos con elevada diversidad molecular y funcionalidad biológica, obtenidas de extractos vegetales, entre los que se encuentran los antioxidantes como los flavonoides, taninos y compuestos fenólicos, los cuales son metabolitos secundarios de muchas plantas, y juegan un papel fundamental su la actividad antioxidante. En este trabajo se presentan los resultados de estudios realizados a los extractos vegetales acuosos de la hierbabuena (*Mentha piperita*, *sativa*, *spicata*) y epazote (*Chenopodium Ambrosioides*), se reportan los resultados obtenidos de la identificación de la presencia de flavonoides, ácidos fenólicos y tatinos, sustancias con propiedades antioxidantes. Se comprobó su poder reductor a través de la formación de nanopartículas de plata, cobre y zinc monitorización mediante el uso de espectros UV-Vis, así como también se logró recuperar la plata en forma de solido limpio y brillante con buenos rendimientos.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha incrementado el interés en la búsqueda de antioxidantes naturales, generalmente constituidos por mezclas de compuestos con elevada diversidad molecular y funcionalidad biológica, obtenidas de extractos vegetales, entre los que se encuentran los antioxidantes como los flavonoides, taninos y compuestos fenólicos, los cuales son metabolitos secundarios de muchas plantas, y juegan un papel fundamental su la actividad antioxidante. Extractos vegetales que contienen antioxidantes, entre los cuales los más importantes son los *compuestos polifenólicos* (Marakarov, 2014) y los *flavonoides*, compuestos con alta capacidad antioxidante y bajos potenciales redox. Los bajos potenciales redox de estos antioxidantes hacen termodinámicamente favorable la reducción de la gran mayoría de radicales libres y algunos metales (Han, 2014). Los compuestos polifenólicos son metabolitos secundarios de las plantas que poseen en su estructura al menos un anillo aromático al que está unido uno o más grupos hidroxilo, la figura 1, muestra su estructura química. (Nacz, 2006).

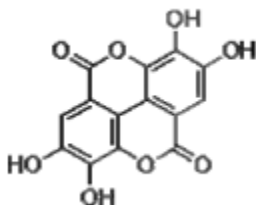


Figura 1. Estructura química de los polifenoles

En los últimos años los extractos de plantas han sido utilizados para sintetizar nanopartículas metálicas en vez de químicos tóxicos, como solventes y surfactantes que se acumulan en el ambiente. La síntesis de nanopartículas metálicas es una evidencia del poder reductor de los extractos vegetales que va a depender de los componentes que la plata contenga, siendo uno de los avances en esta área. Los científicos han implementado uso de plantas en vez de químicos tóxicos, que son capaces de reducir cationes en una disolución de sal metálica. La reducción inicial de iones metálicos induce a la formación de centros de nucleación, estos centros secuestran iones metálicos adicionales y también incorporan lugares vecinos de nucleación que, a veces, conducen a la formación de nanopartículas (García, 2001).

En este trabajo se realizaron estudios cualitativos del poder reductor de los extractos acuosos de los vegetales: hierbabuena (*Mentha piperita, sativa, spicata*) y epazote (*Chenopodium Ambrosioides*). Se reportan los resultados obtenidos de la identificación cualitativa de la presencia de flavonoides, ácidos fenólicos y taninos, sustancias con propiedades antioxidantes. Se comprobó su poder reductor a través de la formación de nanopartículas de plata, cobre y zinc monitorización mediante el uso de espectros UV-Vis, identificando su presencia por la aparición de plasmones de superficie localizados, característicos, de nanopartículas metálicas, cuya naturaleza cuántica es una consecuencia directa del pequeño tamaño de las NPs, y de que la mayoría de sus átomos están en la superficie (Cruz, 2012). Así como también se logró recuperar la plata en forma de solido limpio y brillante con buenos rendimientos. La elección de estos extractos viene motivada por su alta disponibilidad y su bajo costo, no sólo evita utilizar agentes reductores químicos en muchos casos caros y tóxicos, sino que también resulta en un método más económico y ecológico.

PARTE EXPERIMENTAL

Para el estudio del poder reductor de los extractos vegetales se utilizó la hierbabuena (*mentha piperita, sativa, spicata*) y epazote (*chenopodium ambrosioides*), fueron preparados utilizando agua como solvente ya que los solventes polares son los más empleados para el caso de la extracción de los polifenoles de las plantas (Naczka, et al., 2011).

Los metales estudiados a partir de reactivos analíticos fueron el cobre, plata Zn. Las sales de metales que se utilizaron para su reducción fueron: sulfato de cobre (II), nitrato de plata y nitrato de zinc, así como el diaminplata (I). Se prepararon disoluciones de las sales metálicas de 0.001 M.

Preparación de los extractos

La elaboración de extractos se llevó a cabo para cada especie mediante un proceso de extracción sólido-líquido, en las mismas condiciones de temperatura, tiempo de contacto y proporción biomasa-disolvente. Se empleó vegetales procedentes de la región: hojas de epazote y hierbabuena. Toda la biomasa fue previamente lavada, desecada y triturada. Los extractos vegetales fueron preparados utilizando 1.0 g de cada uno de ellos (hierbabuena y epazote) en 100 mL de agua destilada en ebullición, hasta obtener un volumen de 70 mL, esta infusión se filtra y se deja enfriar. Se utilizó agua porque tiene una elevada capacidad de extracción de polifenoles y no presenta toxicidad (Naczka, et al., 2006). Los extractos se almacenaron a 4°C. La figura 1, muestra las fotografías de los extractos vegetales utilizados.



Figura 2. Extractos acuosos del epazote y la hierbabuena

Identificación de polifenoles

La identificación de compuestos fenólicos, flavonoides y taninos, se llevó a cabo a través de los ensayos cualitativos: Shinoda para Flavonoides (Una coloración rosada, roja, violeta o naranja indican una prueba positiva), ensayo del FeCl_3 para compuestos fenólicos (un color verde, azul o negro la prueba se considera positiva) y el ensayo de la gelatina-sal para taninos (precipitado verde, azul o negro la prueba se considera positiva).

Ensayo para compuestos fenólicos: ensayo del FeCl_3

Para la identificación de fenoles se utilizó el ensayo de FeCl_3 . La figura 3, muestra la fotografía de la identificación de ácidos fenólicos contenidos en los extractos, apreciándose un color verde amarillento característico su presencia (Ignat, 2011).



Figura 3. Resultados de la prueba de ácidos fenólicos (verde- amarillento).

Los fenoles dan prueba positiva en presencia de una solución de cloruro férrico al tomar el color verde.

Ensayo para Flavonoides: ensayo de Shinoda

En la identificación de la presencia de flavonoides se utilizó la prueba “ensayo de Shinoda”, prueba que se considera positiva para flavonoides si presenta una coloración rosada, roja, violeta o naranja. Como se puede apreciar en la figura 4, los extractos vegetales utilizados presentan color naranja (Martínez, 2014).



Figura 4. Resultados de la prueba de flavonoides

Ensayo para taninos: ensayo de la gelatina-sal

Para la identificación cualitativa de los taninos presentes en los extractos se utilizó la prueba de “ensayo de la gelatina-sal”, prueba que se considera positiva para taninos si se forma un precipitado. En el caso de los extractos utilizados en este trabajo la prueba fue positiva en todos los dos casos, mostrando el precipitado, prueba de la presencia de taninos. En la figura 5 se aprecia el precipitado formado. (Miranda, 2012).



Figura 5. Resultados de la prueba de taninos (ensayo gelatina-sal).

Formación de nanopartículas de plata, cobre y zinc

Para la reducción de los metales plata, cobre y zinc y consecuente formación de nanopartículas metálicas se procedió de la siguiente manera:

Reducción de la plata.

a). - A 10 ml de nitrato de plata 0.001M se adiciono 30 ml de cada uno de los extractos acuosos de epazote preparado anteriormente con la finalidad de obtener la formación de nanopartículas de plata.

b). En una segunda reacción a 1 ml del compuesto de coordinación diaminplata (I) le fue adicionado 1ml de cada uno de los extractos acuosos, y se dejó reaccionar por 10 min.

Reducción del cobre

A 10 ml de sulfato de cobre 0.001M se adiciona 0.2 ml de etilendiamina al 10%, para la formación del compuesto de bis(etilendiamincobre(II)), al cual se le adiciona 30 ml extracto de hierbabuena, con agitación constante a temperatura ambiente, se dejó reaccionar por 5 minutos.

Reducción del zinc.

A 10 ml de sulfato de zinc 0.001M se adiciono 30 ml de cada uno de los extractos, con agitación continua durante 5 minutos a temperatura ambiente.

En la tabla 1 se resume la cantidad de los reactivos y extractos utilizados.

Tabla 1. Reactivos y extractos	
Muestra	Reactivos
1	AgNO ₃ (10 ml) + extracto de epazote (30 ml)
2	Ag(NH ₃) ₂ (10 ml) + extracto hierbabuena (30 ml)
3	Ag(NH ₃) ₂ (10 ml) + extracto epazote (30 ml)
4	Cu(NO ₃) ₂ (10 ml) + 0.2 ml etilendiamina + extracto hierbabuena (30 ml)
5	Zn(NO ₃) ₂ (10 ml) + extracto hierbabuena (30 ml)

RESULTADOS

De las reacciones químicas propuestas con extractos y los iones metálicos de plata, cobre y zinc se obtuvieron en todos los casos, disoluciones coloridas con propiedades coloidales características de nanopartículas metálicas. La figura 6 muestra las coloraciones de cada una de ellas para el caso de del extracto de hierbabuena, que en el caso de la plata tienen un color amarillento, las del cobre un color ámbar y las de zinc violetas.



Figura 6. Disoluciones de nanopartículas obtenidas con el extracto de hierbabuena. a) Plata, b) Cobre y c) Zinc.

En los tres casos las soluciones obtenidas, fueron caracterizadas por la técnica espectroscópica UV, con la finalidad de detectar la posible formación de nanopartículas metálicas como resultado de la reducción de los metales originada por la presencia de los extractos que realizan el papel de agentes reductores. Técnica que ha probado ser muy útil para el análisis rápido de las soluciones coloidales de las Nps. Se muestran algunos espectros Uv-vis de la evidencia de la formación de nanopartículas metálicas.

La figura 6. Muestra el espectro UV-Vis realizado con la solución obtenida con el extracto de epazote y los iones plata, se observa una banda entre 400-450 nm, confirmándose la obtención de las nanopartículas de plata, prueba que confirma el poder reductor del extracto de epazote.

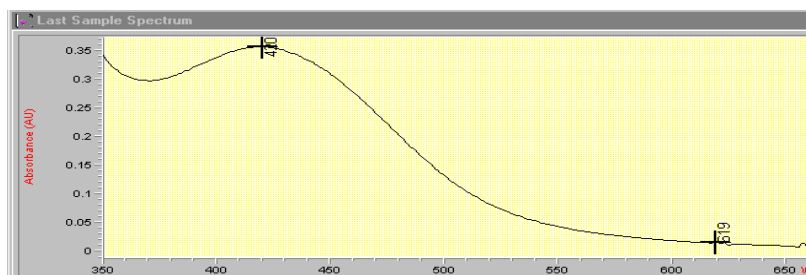


Figura 7. UV-Vis de las nanopartículas de plata obtenidas con el extracto de epazote.

La figura 7. Muestra el espectro UV-Vis de la disolución de las nanopartículas de cobre obtenidas del bis(etilendiaminocobre(II)) con el extracto de hierbabuena. Se observa una banda a una longitud de onda de 378 nm, banda que se encuentra dentro del rango del tamaño de nanopartículas metálicas.

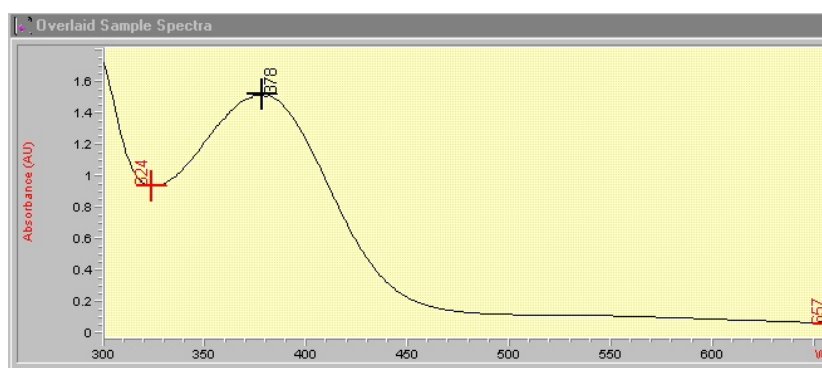


Figura 8. UV-Vis de las nanopartículas de cobre obtenidas con el extracto de hierbabuena.

En la figura 8, aparece el espectro UV-Vis de la disolución de las nanopartículas de Zn obtenidas de la reacción química entre el nitrato de Zinc con el extracto de hierbabuena. Se observa dos bandas a una longitud de onda de 329 nm y 280 nm, bandas que se encuentran dentro del rango del tamaño de nanopartículas metálicas, poniendo en evidencia la reducción de los iones Zn^{++} a Zn metálico.

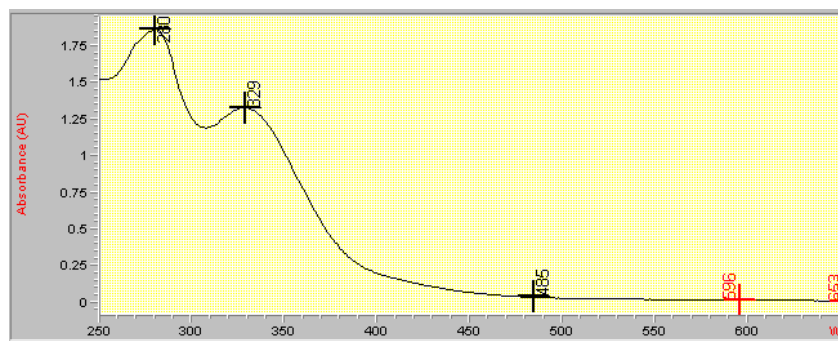
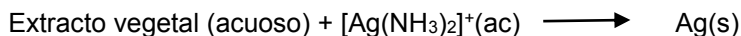


Figura 9. UV-Vis de las nanopartículas de Zn obtenidas con el extracto de hierbabuena.

La reacción de los extractos de epazote y hierbabuena con el compuesto diamminplata(I) Al diamminplata(I) preparado, se adicionó los extractos vegetales preparados previamente en solución acuosa. El $[Ag(NH_3)_2]^+$ es un oxidante muy débil con un potencial de oxidación (0.376 V), que reacciona con los componentes de los extractos vegetales, tanto en solución acuosa, originando que los iones plata se reduzcan a plata metálica depositándose en el fondo del recipiente. El esquema 1. muestra las reacciones químicas que se llevan a cabo. (Skoog, 2010)



Esquema 1. Ecuación de la reducción de la plata por el extracto.

En ambos casos, con extractos de epazote y el de la hierbabuena en solución acuosa se observa que la plata aparece en la solución en forma de un sólido con apariencia plateada, como resultado de la reducción de la plata de Ag^{1+} a $\text{Ag}^0(\text{s})$, obteniéndose la plata en forma de hojuelas de plata. La figura x, muestra la apariencia de la plata obtenida.



Figura 10. Plata metálica obtenida de la reducción de la plata con los extractos de epazote y hierbabuena.

CONCLUSIONES

Las pruebas cualitativas de la presencia de flavonoides, ácidos fenólicos y tatinos, en los extractos de epazote y hierbabuena resultaron positivas.

Los espectros de UV-Vis ponen en evidencia el poder reductor de los extractos vegetales de hierbabuena y epazote, el plasmon superficial que aparece entre 400 nm y 600 nm, es evidencia de la formación de nanopartículas metálicas debido a la ganancia de electrones.

Se pone de manifiesto sintetizar nanopartículas metálicas a partir de este método, es posible reducir los costos de manufactura y el impacto negativo al medio ambiente debido a que el agente reductor usado es de carácter natural.

De la reacción del diaminplata(I) con los extractos de hierbabuena y del epazote se logro reducir a la plata y obtenerla en forma de hojuelas.

A partir de los resultados obtenidos se puede concluir que es viable utilizar extractos vegetales para la reducción de metales y de esta forma recuperar metales en forma metálica.

REFERENCIA

1. A. Ravindran, P Chandran & S.S Kham. Biofunctionalized silver nanopart: Advances and prospects. *Colloids and supertaces B: Biointerfasce.*, 2013, 105: 342-352.
2. A. D. Skoog A.D., West, M. D., Holler, F. J., Crouch, S. R. *Fundamentos de química analítica*. 8ª. Ed. CENGAGE. Learling, 2010.
3. D. A. Cruz, M. Rodríguez, J López, V Herrera. Nanopartículas metálicas y plasmones de superficie: una relación profunda. *Avances en Ciencias e Ingeniería*: 3(2), 2012, 67-78.
4. M. Naczki, F. Shahidi. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *J. Pharm Biomed. Anal.*, 2006, 41: 1523-1542.
5. V. García, D. M. Rojo, E. Sánchez. "Plantas con propiedades antioxidantes". *Revista Cubana de Investigación Biomédica*, 2001, 20(3): 231-235.
6. I. Ignat, V, Volf, A, Popa. A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chem.*, 126, 2011, 1821-1835.
7. M. Miranda & A Cuellar A. (2012). *Farmacognosia y Productos Naturales*. Guayaquil, Guayas, Editorial *Félix Varela*, La Habana, 2012.
8. R. M. Han, J. P. Zhang, L. H. Skibsted. Reaction Dynamics of Flavonoids and Carotenoids as Antioxidants. *Molecules.*, 17, 2012, 2140-2160.

9. V. Makarov, S. Makarova, A. J. Love. Biosynthesis of Stable Iron Oxide Nanoparticles in Aqueous Extracts of *Hordeum vulgare* and *Rumex acetosa* Plants. *Langmuir.*, 30: 20, 2014, 5982–5988 2014.
10. Zanella R. (2012). Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño www.mundonano.unam.mx | Vol. 5, No. 1, enero-junio, 2012 | Artículos | Mundo Nano |

CONCENTRACIÓN DE NITRATOS EN LECHUGA OREJONA (*LACTUCA SATIVA* L. VAR. PARRIS ISLAND) EN UN CULTIVO INTERCALAR CON HINOJO (*FOENICULUM VULGARE* MILL.)

Claudia Cecilia Barrera Aguilar, María Socorro Orozco Almanza, Roberto Ramos González y María de Jesús Rojas Cortés

FES Zaragoza, UNAM.

RESUMEN

Las hortalizas son consideradas como una fuente nutricional importante en la dieta diaria del mexicano. La lechuga es una hortaliza de hoja verde altamente consumida en México por su alto contenido en vitaminas, minerales y fibra; sin embargo, tiende a acumular nitratos en sus hojas a causa de los fertilizantes químicos utilizados en su cultivo. La fertilización orgánica podría reducir significativamente la acumulación de nitratos (compuestos altamente cancerígenos) en hojas de lechuga, así como la práctica de policultivos comensalísticos, donde un cultivo ejerce un efecto positivo sobre la otra especie; en este caso una mayor absorción de nitratos, con el fin de reducir la concentración en las hojas de lechuga. El objetivo de este trabajo fue valorar el efecto de un cultivo intercalar hinojo-lechuga orejona, en la reducción de nitratos en las hojas de lechuga. El estudio consistió en dos tratamientos: un policultivo de lechuga-hinojo y un monocultivo de lechuga, cultivadas en dos parcelas separadas a cielo abierto, utilizando bocashi como principal abono orgánico. La siembra fue directa y cada tratamiento constó de 25 repeticiones. Las concentraciones promedio de nitratos en el monocultivo fue de 1550 ppm, y en el policultivo de 575 ppm, en ambos casos los valores están dentro de los límites permisibles (Legislación de la Unión Europea) para su consumo. El cultivo intercalar lechuga-hinojo reduce la concentración de nitratos en un 37% con respecto al monocultivo, sin embargo, en ambos casos su concentración no es riesgosa para el consumo humano, de aquí que el cultivo orgánico con abono bocashi es altamente recomendable.

INTRODUCCIÓN

La lechuga (*Lactuca sativa* L.) es una hortaliza de hoja altamente consumida a nivel mundial por ser una fuente importante de vitaminas, minerales y fibra (Sánchez *et al.*, 2012). En México se cultiva prácticamente en todos los estados, sin embargo, las zonas con una mayor superficie dedicada a este cultivo se encuentran en el centro, bajo y noreste del país (INEGI, 1998).

Para su cultivo como en el de un gran número de hortalizas y frutales, se utilizan fertilizantes químicos que están compuestos por sales altamente solubles y que contienen nitrógeno, fósforo y potasio (Rodríguez *et al.*, 2014). La finalidad de usar este tipo de insumos en la producción de alimentos es aumentar los rendimientos de los cultivos, y desde los años 60 se han aplicado grandes cantidades de fertilizantes nitrogenados en parcelas de cereales y de hortalizas (IDAE, 2007).

Estos fertilizantes altamente nitrogenados generan la acumulación de nitratos (NO_3^-) en las hojas de las hortalizas, principalmente de hoja verde, como la lechuga, espinaca, acelga, kale, entre otras, siendo el contenido de nitratos de éstas mayor que en otros alimentos, (Rincón *et al.*, 2002). Del total de nitratos ingeridos diariamente, entre 72 y 94 % provienen de diversas hortalizas, (Sánchez, 2010). También se ha observado que la lechuga es una de las hortalizas verdes que más nitratos acumula en sus hojas, a causa de los fertilizantes químicos utilizados en su cultivo (Rincón, 2005; Raigón 2010). Por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de un cultivo intercalar (hinojo-lechuga), en la concentración de nitratos en las hojas de la lechuga orejona, una de las variedades más consumidas en México.

TEORÍA

Se ha estudiado que el consumo de alimentos con elevado contenido de nitratos puede ser nocivo para la salud, ya que puede causar metahemoglobinemia, que se caracteriza por inhibir el transporte de oxígeno en la sangre (Martínez *et al.*, 2011). También puede reaccionar con aminos secundarias, terciarias y amidas provenientes de otros alimentos, y generar *N*-nitrosocompuestos de formación endógena, que son cancerígenos en más de 40 especies animales, incluyendo mamíferos, aves, reptiles y peces (Sánchez *et al.*, 2012).

El optar por fertilizantes orgánicos como compostas, lombricompostas y bocashi puede reducir significativamente la acumulación de nitratos en las hortalizas de hoja verde, aumentando, además, el contenido de materia orgánica y por lo tanto incrementando el porcentaje de nitrógeno total en el suelo (Trinidad, 2011). Otra alternativa para reducir el contenido de nitratos en las hortalizas es recurrir a la asociación de cultivos, en donde se hace coincidir en tiempo y espacio a más de una especie, para que las plantas por medio de sus raíces segreguen sustancias que favorezcan o rechacen a otras plantas vecinas, esto puede influir sobre la disponibilidad de nutrientes, como el nitrógeno, dándose de esta manera, acciones favorables o desfavorables entre las plantas de la asociación. Un ejemplo de esto es la combinación de hinojo con lechuga, en donde se ha registrado que los iones nitrato en las hojas de la lechuga bajan significativamente en relación con el monocultivo de lechuga (Raigón, 2008). En la literatura se cita que el hinojo puede actuar como una planta trampa para los nitratos presentes en el suelo (Raigón, 2008), sin embargo, esto no ha sido estudiado para todas las variedades de lechuga.

PARTE EXPERIMENTAL

La lechuga se cultivó por semillas. Se prepararon dos camas de cultivo con un área de 6 m². Las cuales fueron abonadas previamente con 5 kg de bocashi/m². Una cama correspondió al tratamiento (cultivo intercalar o policultivo) y la otra al testigo (monocultivo). En ambas camas se trabajaron dos surcos elevados separados entre sí por 40 cm. En el caso de las lechugas, se utilizó el método de siembra directa; dónde se colocaron 40 grupos de 5 semillas cada uno, separados entre sí por 25 cm, teniendo un total de 20 grupos por surco. Se siguió el mismo procedimiento tanto para el monocultivo como para el policultivo, sin embargo, en este último se trasplantaron 12 plantas de hinojo con una separación de 50 cm entre ellas, cuidando la incidencia de la luz solar, para que el follaje del hinojo no ocasionara sombra a las lechugas. Ambos cultivos fueron regados con agua de lluvia.

Durante el crecimiento de la lechuga, se evaluaron algunas variables de respuesta tales como altura y cobertura, que se midieron a los 19, 41, 61, 82 y 105 días de edad de la planta; también se midió el contenido de clorofila a los 56, 84 y 107 días de edad y el contenido de nitratos y de grados brix (°Bx) en hojas, a los 82 y 105 días de edad. Posterior a la cosecha se evaluó la tasa de crecimiento relativo (TCR), el coeficiente de esbeltez (CE), la relación raíz-vástago (R/V) y el índice de calidad de Dickson (ICD), así como también se obtuvieron los pesos húmedos y secos de la parte aérea y la raíz y el número de hojas. Se hizo lo mismo en ambos tratamientos. Las variables de respuesta se analizaron en un ANOVA completamente al azar con 25 repeticiones y las medias se compararon por Tukey ($p \leq 0.05$). Se utilizó el programa NCCS versión 7.

RESULTADOS

La altura, cobertura, número de hojas, peso húmedo y seco del vástago, y coeficiente de esbeltez (CE) no presentar on diferencias significativas ($p \geq 0.05$) entre tratamientos (Figs. 1 y 2).



Figura 1. Policultivo Hinojo-Lechuga



Figura 2. Monocultivo de Lechuga

La TCR, la relación R/V, el índice de Dickson (ICD), la concentración de nitratos (ppm) y la cantidad de clorofila en hojas de lechuga, así como los pesos húmedos y secos de las raíces, presentaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos.

El peso seco y húmedo de las raíces de las lechugas en el policultivo presentaron los valores más altos, lo que indica una absorción más adecuada de nutrientes y agua, estimulada por la asociación con el hinojo, como consecuencia de una eficiencia compartida en el uso de estos recursos (Figs. 3 y 4)

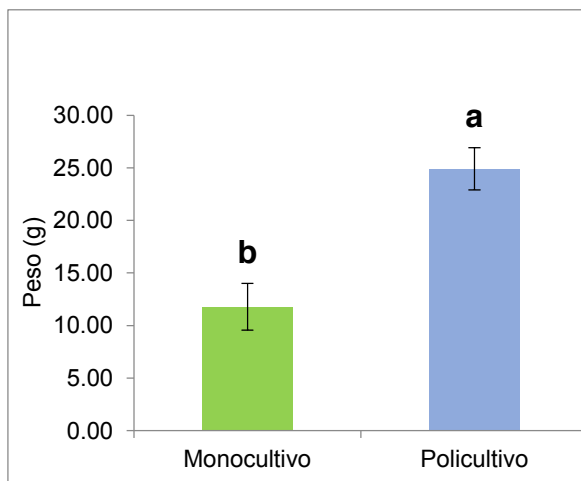


Figura 3. Peso húmedo de las raíces de las plantas de lechuga en mono y policultivo

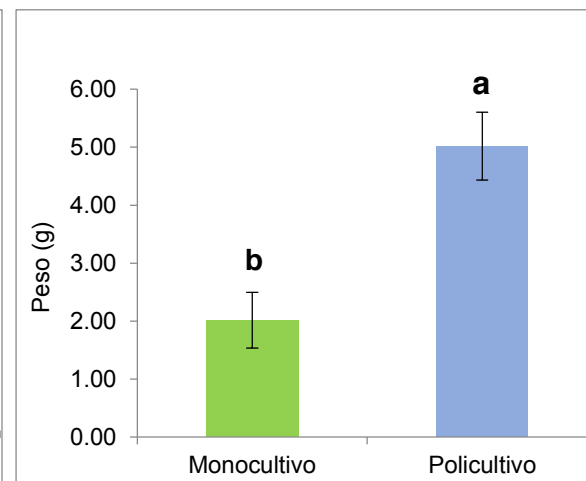


Figura 4. Peso seco de las raíces de las plantas de lechuga en mono y policultivo

El monocultivo presentó la TCR más alta, lo que significa que, al no haber diferencia significativa en la altura final en ambos tratamientos, el monocultivo alcanzó su mayor altura más rápido que el policultivo (Fig. 5).

Por otro lado, el policultivo presentó una mejor relación raíz-vástago, lo que nos indica que las plantas presentan un mayor equilibrio entre ambas estructuras, y por tal motivo tuvieron un mejor abastecimiento de agua y de nutrientes (Fig. 6).

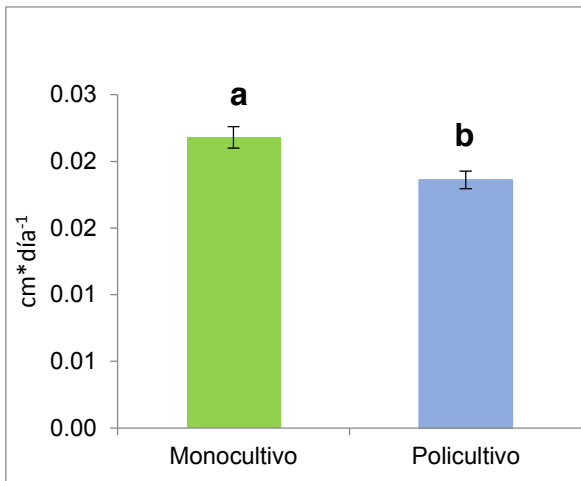


Figura 5. Tasa de crecimiento relativo de mono y policultivo

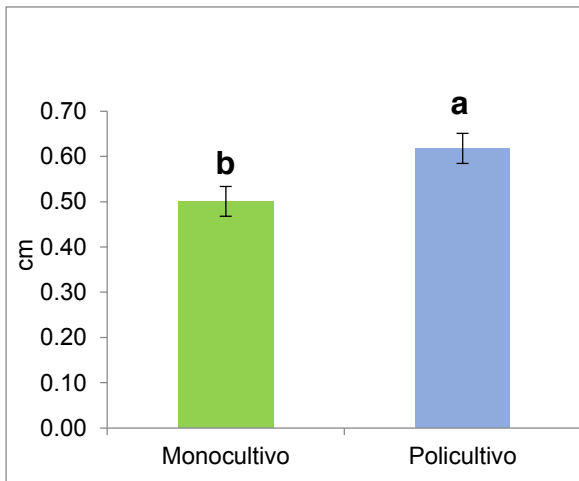


Figura 6. Relación raíz-vástago de mono y policultivo

El índice de calidad de Dickson fue mayor en el policultivo que en el monocultivo, lo que indica que las lechugas del cultivo intercalar presentaron mejores características morfológicas (Fig. 7). La absorción de clorofila también fue mayor en el policultivo, haciendo evidente una actividad fotosintética mayor que en el monocultivo (Fig. 8).

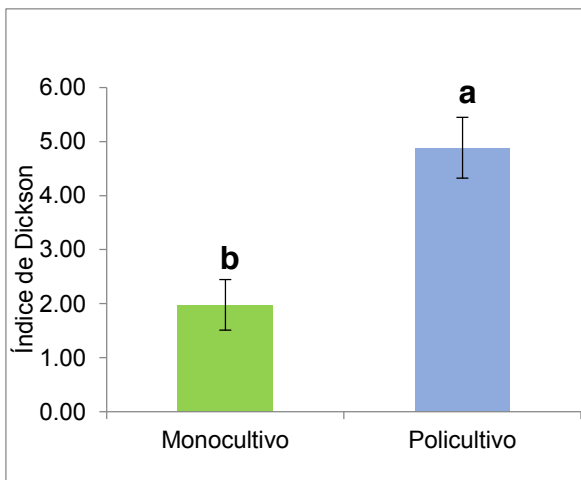


Figura 7. Índice de calidad de Dickson en hojas de lechuga en mono y policultivo

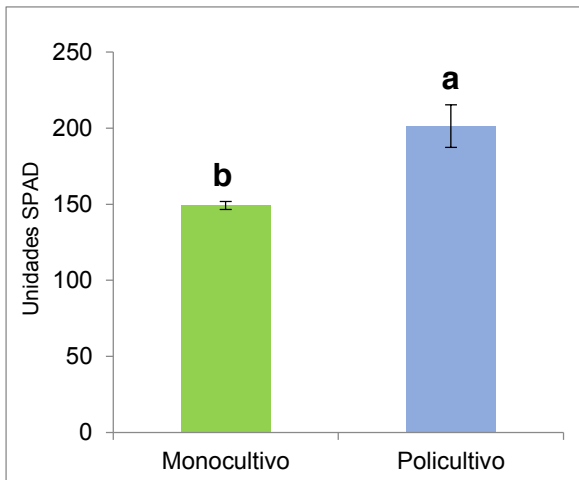


Figura 8. Cantidad de clorofila en hojas de lechuga en mono y policultivo

La concentración de nitratos en hojas de lechuga fue menor en el policultivo (Fig. 9), tanto a los 82 como a los 112 dds. A los 82 dds se registró el menor valor de nitratos en hojas intermedias y aumentando posteriormente tanto en hojas viejas como intermedias sin presentarse diferencias entre ellas a los 112 dds. En el monocultivo (Fig. 10), aunque los valores de nitratos fueron más altos, en las hojas, éstos están dentro de lo permisible para la ingesta diaria sin causar daño en la salud del

hombre (Legislación de la Unión Europea). Los grados brix ($^{\circ}\text{Bx}$) fueron más altos en el policultivo (Fig.11), pero en ambos tratamientos el contenido es bueno (Figuras 11 y 12).

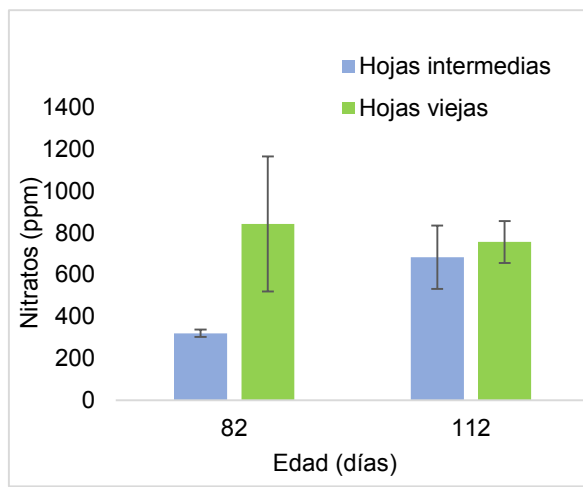


Figura 9. Nitratos (ppm) de policultivo a los 82 y 112 días de edad, en hojas viejas e intermedias.

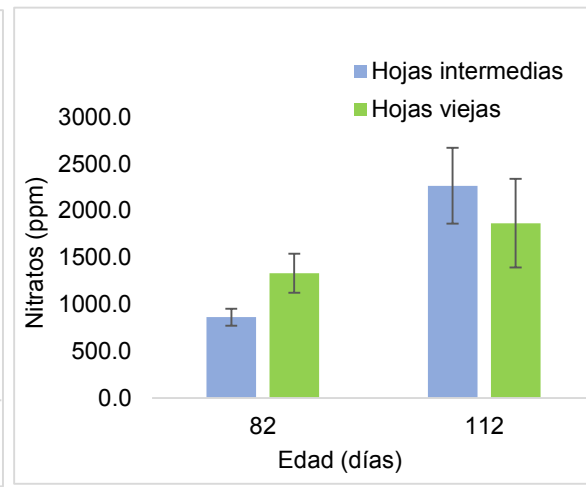


Figura 10. Nitratos (ppm) de monocultivo a los 82 y 112 días de edad, en hojas viejas e intermedias.

CONCLUSIONES

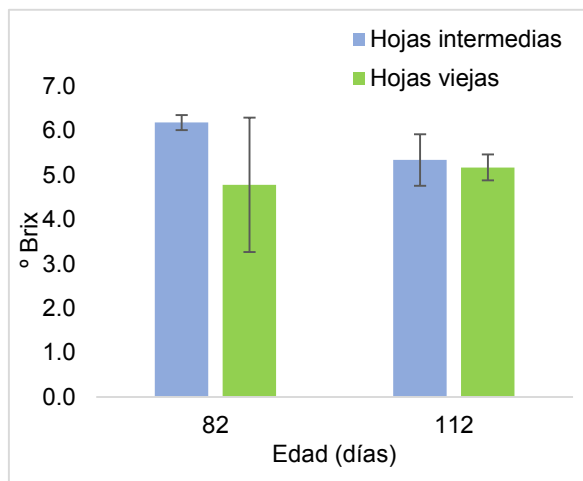


Figura 11. Grados brix en policultivo a los 82 y 112 días de edad, en hojas viejas e intermedias.

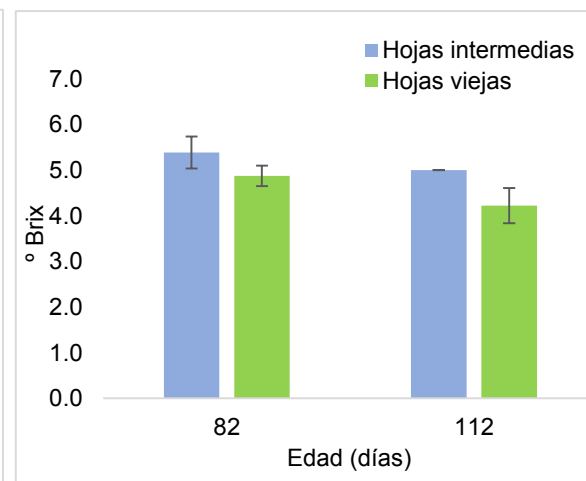


Figura 12. Grados brix en monocultivo a los 82 y 112 días de edad, en hojas viejas e intermedias.

- El hinojo en el cultivo intercalar, redujo la concentración de nitratos en las hojas de lechuga en comparación con el monocultivo, aunque en ambos casos el rango de nitratos está dentro de la norma europea para el consumo humano.
- El hinojo no ejerce competencia con la lechuga ya que no afecta su altura, cobertura, número de hojas y rendimiento, además de actuar como planta trampa de la oruga de la

mariposa blanca (*Leptophobia aripa*) y como planta hospedera de la catarina (*Harmonia axyridis*), enemigo natural del áfido que ataca a la lechuga.

BIBLIOGRAFÍA

1. IDAE. Ahorro, Eficiencia Energética y Fertilización Nitrogenada. Serie "Ahorro y Eficiencia Energética en la Agricultura", 2007, Madrid. http://www.idae.es/uploads/documentos/documentos_10418_Fertilizacion_nitrogenada_07_e65c2f47.pdf
2. INEGI. "Principales cultivos hortícolas en México". pp. 28. 1998. México.
3. Martínez, G. F., Ojeda, B. L., Hernández, R. O., Martínez, T. J. y De la O. G. "El exceso de nitratos un problema actual en la agricultura". Facultad de Ciencias Agrotecnológicas. Universidad Autónoma de Chihuahua. Revista Synthesis, Vol, 57, 2011, pp. 11-16.
4. Raigón, J. D. "Disminución de sustancias nocivas: Nitratos. Alimentos ecológicos, calidad y salud". España: Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. Sociedad Española de Agricultura Ecológica., 2008, pp 193.
5. Raigón, J. D. "La calidad de los alimentos ecológicos". Agricultura y Ganadería Ecológica, Vol., 0, 1990, pp: 52-55.
6. Rincón, S. L., Pérez, C. A., Pellicer, B C., Sáez, S. J. y Abadía, S. A. "Influencia de la fertilización nitrogenada en la absorción de nitrógeno y acumulación de nitratos en la lechuga iceberg". Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg. Vol. 17, 2, 2002, pp: 303-318.
7. Rincón, S. L. Fertilización nitrogenada y contenido de nitratos en hojas de lechuga Iceberg. Vida Rural, Vol., 210, 2005, pp: 50-55.
8. Rodríguez, O. J., Alcalá, J. J. A., Hernández, M. A., Rodríguez, F. H., Ruiz, E. F. H., García, H. J. L. y Díaz, F. P. (2014). "Elementos traza en fertilizantes y abonos utilizados en agricultura orgánica y convencional". Revista mexicana de ciencias agrícolas, 5, 4, pp: 695-701.
9. Sánchez, T.M. "Evaluación de la calidad de lechuga (*Lactuca sativa* L.) respecto a su contenido de nitratos y materia seca". Revista de la Facultad de Agronomía-UNLPam, Vol., 21, 2010, pp: 29-36
10. Sánchez, T. M., Siliquini O. A., Gili A. A., Baudino E. M. y Morazzo G. C. "Contenido de nitratos y proteína en lechuga cressa y amaranto hortícola producidos con enmienda y urea". Revista Chapingo Serie Horticultura, Vol., 18, 2012, pp: 217-226.
11. Trinidad, S. A. "Abonos orgánicos". Instituto de Recursos Naturales, Colegio de Postgraduados. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural y Pesca. 2011. <http://www.sagarpa.gob.mx/desarrolloRural/Documents/fichasCOUSSA/Abonos%20organicos.pdf>

MODIFICACIONES EN LA MORFOLOGÍA Y FUNCIÓN TESTICULAR DE RATAS EXPUESTAS A MERCURIO (HG)

Josefina Huerta García¹, Sonia Eugenia Vargas Villalobos², Citlalli Selene Ruiz García², Brenda Asaneth Montoya Coronado², Jorge Bluhm Gutierrez³ y Santiago Valle Rodriguez³

¹Universidad Autónoma de Zacatecas, Laboratorio de Biología Ambiental y Molecular, ²Unidad Académica de Ciencias Biológicas UAZ, ³Unidad Académica de Ciencias de la Tierra.
jhuga@msn.com

RESUMEN

La función reproductiva masculina se ha visto deteriorada significativamente en los últimos 50 años y dicha alteración podría estar relacionada con la exposición a contaminantes ocupacionales y ambientales como es el mercurio (Hg) (Mínguez, Mendiola, & Torres, 2014). Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de dos compuestos mercuriales: Cloruro de Mercurio (HgCl₂) y Metilmercurio (CH₃Hg) en dosis que marcan los Límites Máximos Permisibles (LMP) considerando las diferentes fuentes de exposición para estos metales, en base a lo reportado por la Agencia de Sustancias Tóxicas y el Registro de enfermedades (ATSDR) y la NOM-242-SSA1-2009; correlacionando así la exposición ambiental y ocupacional de Hg y su posible implicación en infertilidad masculina. Para ello se utilizaron ratas machos *Long evans*, con una edad de 4 a 5 semanas, peso corporal de 300 a 350 g de peso, provenientes del bioterio de la UACB-UAZ, los cuales se expusieron por un periodo de tres meses a través del agua de beber. Los animales fueron distribuidos en 3 grupos: grupo 1 control tratado con agua destilada únicamente, grupo 2 con HgCl₂ (1mg/L) y grupo 3 con CH₃Hg (0.1mg/L). Posteriormente se realizó la eutanasia por dislocación cervical. Se utilizó el ensayo de la morfología de la cabeza del espermatozoide para evaluar la toxicidad de las dos formas mercuriales sobre la calidad seminal (morfología y concentración espermática). Posteriormente, los testículos fueron diseccionados y fijados en formol al 5% para su posterior inclusión en parafina. Se realizaron cortes de 3-4 µm en micrótomo y por último fueron teñidos con Hematoxilina-Eosina para evaluar los posibles daños histopatológicos. Los resultados mostraron una diferencia en cuanto a la concentración espermática en millones de espermatozoides por mL del grupo control (8.01) y los grupos expuestos: HgCl₂ (5.91) y CH₃Hg (6.66). En cuanto a la morfología de la cabeza del espermatozoide el grupo expuesto a CH₃Hg mostró mayor frecuencia de alteraciones (cabeza amorfa, sin gancho, plegados y dos colas) con respecto al control. En el grupo de HgCl₂ las alteraciones morfológicas fueron menores, pero predominó la alteración en forma de banana. Los análisis histopatológicos de las gónadas masculinas expuestas a mercurio revelaron ciertos cambios estructurales: pérdida de cohesión celular y obliteración de los túbulos seminíferos. También se llevó a cabo un conteo de espermatogonias donde los grupos expuestos a HgCl₂ (61.23%) y CH₃Hg (48.01%) mostraron un incremento de las mismas, con respecto al control negativo (41.62%). Los resultados obtenidos demuestran que los compuestos mercuriales pueden ser considerados como factores causales de infertilidad masculina provocando alteraciones estructurales a nivel de las gónadas y afectando la calidad seminal disminuyendo la concentración espermática y aumentando las anomalías morfológicas en los gametos masculinos.

INTRODUCCION

La función reproductiva masculina se ha visto afectada significativamente en los últimos 50 años y dicha alteración parece estar relacionada con la exposición a diferentes contaminantes ocupacionales y ambientales entre los que tenemos principalmente los metales pesados. Estas sustancias ejercen sus efectos durante el desarrollo embriológico de las gónadas masculinas o en las funciones testiculares en adultos. Se encuentran reportes de que al menos el 50% de los casos de infertilidad de etiología desconocida están relacionados con la exposición a tóxicos medio ambientales a los que el hombre se ve expuesto por actividades laborales o incluso por su localización demográfica, lo que implica un mayor riesgo por los periodo de exposición y el grado de la misma (Mendiola *et al.*, 2007). Existe una importante preocupación a nivel mundial debido a la constante disminución de la capacidad reproductiva masculina, la incidencia de infertilidad va en aumento con cifras que varían entre el 15 y 20% de la población en edad reproductiva (Pérez, 2007).

En México un gran número de comunidades están expuestas a diferentes sustancias xenobioticas, fruto de la actividad industrial que se realiza en el país, una de estas sustancias es el Mercurio (Hg) que se encuentra considerado como la tercer sustancia más peligrosa justo detrás del Plomo (Pb) y el Arsénico (As) (Lozano-kasten, Trasande, Suárez, Bopp, & Padilla-Segundo, 2015). La exposición a metales pesados no tienen el mismo efecto en todos los individuos, sin embargo algunos de estos parecen afectar negativamente el sistema reproductivo ya que causan cierta perturbación del eje gonadal hipotálamo-pituitario o afecta directamente la espermatogénesis (Mínguez *et al.*, 2014). Se ha observado que las exposiciones a Hg parecen afectar directamente los tejidos del sistema reproductor masculino así como la calidad seminal de los individuos expuestos (Zhu, Jia, Cao, Meng, & Liu, 2014).

TEORÍA

Los Metales Pesados pueden ser tóxicos como consecuencia de exposiciones agudas (dosis altas en periodos de tiempo cortos) o crónicas (dosis bajas en periodos de tiempo largos), cuando se habla de exposición derivada de actividades ocupacionales o por lugar de residencia, los efectos de estas corresponden a una exposición de tipo crónico. Esto debe ser considerado como factores de riesgo a la salud, debido a que las exposiciones aún con dosis bajas con periodos de tiempo prolongados pueden causar daños irreversibles en los organismos (Boekelheide, 2005; Duruibe J, Ogwuegbu M, 2007). El Hg se puede encontrar de manera natural en el ambiente en diferentes estados de oxidación, en su forma pura se le conoce como mercurio elemental o metálico (Hg^0), como compuestos inorgánicos o sales de mercurio podemos encontrar al HgCl_2 , cuando este metal se combina con carbono se forman los compuestos orgánicos de mercurio el más conocido es el metilmercurio (CH_3Hg) (Yarto, Gavilán, & Castro, 2004; OMS, 2013; Martínez *et al.*, 2014). El Hg tiene la capacidad de biomagnificarse en situaciones de exposición prolongada, su introducción a las cadenas tróficas resulta relativamente fácil, al encontrarse dentro de los metales que actúan como disruptores endocrinos, tiene la capacidad de causar desordenes en glándulas endocrinas y hormonas, lo que deriva en algunos de sus efectos más nocivos, que comprometen en gran medida al sistema reproductor (Romano, 2012). Se ha documentado que el Hg es un contaminante ambiental que afecta el sistema reproductor masculino, sin embargo, el mecanismo con el que induce alta toxicidad no es muy claro, sin embargo, existe evidencia que indica que altas dosis provoca estrés oxidativo en estos procesos. Estudios en ratas tratadas con compuestos mercuriales inorgánicos a dosis menores a dosis menores a las señaladas como límites permisibles por la EPA argumentan no presentar cambios macroscópicos en los tejidos del sistema reproductor masculino, sin embargo, parecen alterar la calidad seminal, lo que se puede asociar con infertilidad masculina (Martínez *et al.*, 2014). La contaminación ambiental por metales pesados es ya un problema mundial, por la incorporación permanente de nuevos productos industriales y el conocimiento del daño agudo o crónico que ellos producen especialmente a la salud reproductiva humana es insuficiente.

PARTE EXPERIMENTAL

El modelo experimental utilizado para el estudio fueron 15 ratas macho, adultas jóvenes, de la cepa *Long Evans* con edades de entre 4-5 semanas y con peso corporal 300 y 350 g procedentes del bioterio de la UACB-UAZ. Los animales se dividieron en 3 grupos con cinco animales cada uno: grupo 1 Control tratado con agua destilada únicamente, Grupo 2 con HgCl_2 1mg/L y Grupo 3 con CH_3Hg 0.1mg/L. Los tres grupos se expusieron por un periodo de tres meses consecutivos por vía oral a través del agua de beber donde se administró el compuesto mercurial. El manejo de los animales se llevó a cabo de acuerdo a la NOM-062-ZOO-1999. Una vez transcurridos los 3 meses de tratamiento, se procedió al sacrificio de los animales por dislocación cervical continuando con la extracción de los tejidos de interés (epidídimo y testículos). Los epidídimos se utilizaron para el ensayo de morfología de la cabeza del espermatozoide para evaluar calidad seminal, de acuerdo a su concentración y caracterización espermática, mientras que los testículos fueron diseccionados para ser fijados en formol 5% (pH=6.7), embebidos en parafina, cortados en micrótomos con un grosor de 3-4 μm y por último teñidos con Hematoxilina-Eosina para determinar los posibles daños histopatológicos.

Conteo y caracterización espermática

Se realizó la extracción de ambos epidídimos, los cuales se cortaron a pequeños fragmentos que fueron colocados en una caja Petri que contenía 2 mL de solución isotónica de NaCl al 0.9%. La muestra se homogenizó con pipeta Pasteur transfiriéndose a tubos de ensayo hasta obtener una suspensión homogénea a la cual se le añadió 0.05 ml de tripsina al 0.25% para lograr la ruptura de tejido conectivo y la separación de los espermatozoides. Una vez realizada la tripsinización, la suspensión fue diluida 1:10 en NaCl 0.9%, para posteriormente tomar 10 µl de dicha solución y colocarla en una cámara de Neubauer para el conteo espermático. Para la valoración por conteo espermático se utilizaron los parámetros correspondientes al estudio del espermograma definidos por Lucio, Tlachi, Lopez, Zempoalteca, & Velazquez, 2009, obteniendo resultados de millones de espermatozoides por mL. A partir del homogenizado obtenido se realizó una tinción espermática con 5 gotas de eosina al 1%, después de dejarlo reposar por un periodo de 5 minutos, una gota del preparado se extendió sobre una laminilla seca y se analizó una cantidad de 500 espermatozoides por muestra, y se realizaron 2 repeticiones por rata (Lucio *et al*,2009).

Caracterización histopatológica

Se realizó además una preservación del tejido testicular en formaldehído al 5% para su estudio histológico, una vez fijadas las muestras se colocaron en cassetes histológicos y se etiquetaron, se lavaron con agua corriente durante varios minutos para retirar el exceso de fijador y posteriormente se enjuago con agua destilada, en seguida se procedió con la deshidratación del tejido para lo cual se somete la muestra a un tren de alcoholes que van de menor a mayor concentración (60%, 80%, 96% y etanol absoluto) con un periodo de estancia de 1 hora por cada solución, una vez terminado esto se procede a la aclaración del tejido con xileno por una hora y se lleva a cabo la pre inclusión en parafina y posteriormente a la inclusión definitiva donde se orientó la muestra. Una vez que el bloque solidifico fue llevado al micrótopo para obtener cortes de 3-4 µm de espesor. Se extendieron los cortes en baño de flotación y se procedió a su colocación en el porta objetos para ser posteriormente des parafinados en horno y por sumergimiento en xilol. Para llevar a cabo la tinción se realizó nuevamente una rehidratación colocando la muestra en una mezcla de xilol-etanol absoluto (1:1) durante 5 minutos para seguir con el tren de hidratación (etanol absoluto, 96%, 80%, agua destilada) con un periodo de estancia de 2 minutos por cada solución. Para finalizar la muestra se sometió a una tinción de Hematoxilina-Eosina. Adicionalmente se realizó el conteo de espermatogonias, como un análisis exploratorio que permitiera sugerir si alguno de los compuestos mercuriales podría tener cierta repercusión sobre los niveles hormonales de los individuos de estudio, para ello se tomaron en cuenta 3 túbulos seminíferos por individuo realizando un conteo doble ciego para cada repetición, obteniendo resultados en número de espermatogonias/mm².

RESULTADOS*Conteo espermático*

Para la valoración del conteo espermático se utilizaron los parámetros correspondientes al estudio del espermograma estandarizado por la OMS, realizando un conteo de espermatozoides en la cámara de Neubauer para posteriormente calcular y obtener resultados en millones de espermatozoides por mL de cada grupo, como se muestra en la Tabla 1. Como se puede observar en dicha tabla, tanto el grupo de CH₃Hg y HgCl₂ se ven afectados al disminuir la concentración en millones de espermatozoides por mL en comparación con el grupo control, el grupo más afectado al medir este parámetro fue el de HgCl₂, seguido de grupo de CH₃Hg.

Tabla1. Concentración espermática expresada en millones de espermatozoides por mL en ratas control, expuestas a HgCl₂ y a CH₃Hg.

	Grupo Control Negativo	Grupo HgCl ₂ 1mg/L	Grupo CH ₃ Hg 0.1 mg/L
Millones de espermatozoides por mL	8.01	5.91	6.66

Caracterización espermática

De acuerdo a los resultados de morfología de la cabeza del espermatozoide, se obtuvo el 82.91% de espermatozoides normales en grupo control, mientras que en los grupos expuestos se observó un descenso en estos grupos: grupo con HgCl_2 mostró un 79.92% de gametos masculinos normales, mientras que en el grupo de CH_3Hg fue de 73.25%. Respecto a la morfología de la cabeza del espermatozoide los individuos tratados presentaron un mayor número de alteraciones, especialmente el grupo de CH_3Hg el cual mostró un porcentaje más alto de aberraciones con respecto al grupo control, como se observa en la Tabla 2, en cuanto a espermatozoides amorfos, sin gancho, con cabeza amorfa, plegados y de dos colas el grupo más afectado fue el de CH_3Hg . El grupo de HgCl_2 mostró espermatozoides en forma de banana con mayor frecuencia, en comparación con los grupos de CH_3Hg y control.

Tabla 2. Efecto de CH_3Hg y HgCl_2 sobre la morfología de la cabeza del espermatozoide en ratas Long Evans (%).

Grupos	n	N	A	SG	B	CA	P	DC
Control Negativo	5	82.91	17.02	2.30	4.10	5.50	5.12	0
HgCl_2 1mg/L	5	79.92	20.08	3.30	5.42	5.46	5.90	0
CH_3Hg 0.1 mg/L	5	73.25	26.75	4.45	3.95	7.2	10.15	1

N= Normales, A=Amorfos, SG=Sin Gancho, B= Banana, CA= Cabeza Amorfa, P= Plegados, DC= Dos Colas.

Caracterización histopatológica

En el grupo control se observa una morfología normal de los tejidos, mientras que en los dos grupos expuestos podemos apreciar ciertas alteraciones como son una pérdida de la cohesión celular y marcada obliteración de túbulos espermáticos. Los tejidos tratados con HgCl_2 presentan en especial la obstrucción en los túbulos seminíferos a diferencia de los otros dos grupos (Imagen 1). Como lo muestra la Imagen 2, los tejidos tratados con CH_3Hg presentan desorganización celular y pérdida de la cohesión celular. Con respecto a los resultados del conteo de espermatogonias, se muestra que los dos grupos expuestos incrementan el número de espermatogonias con respecto al control, el grupo de HgCl_2 es el que muestra un incremento mayor con respecto al grupo control, seguido por el grupo de CH_3Hg (Gráfica 2).

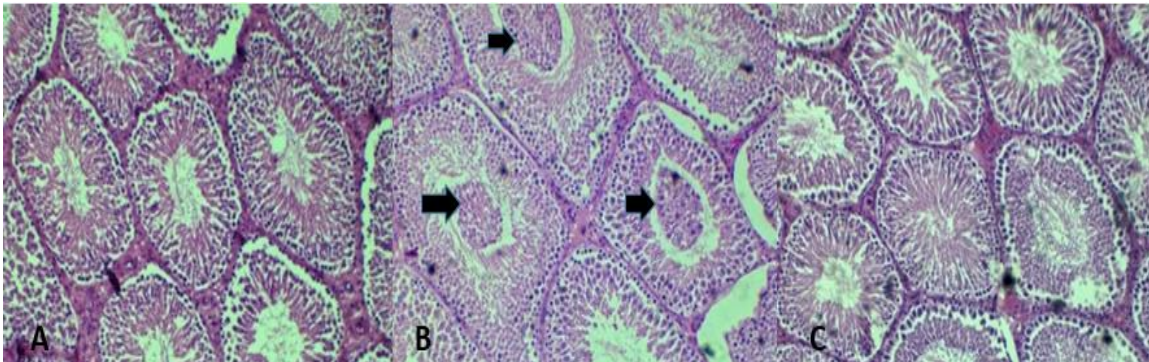


Imagen 1. **A** Cortes de testículo de rata: Grupo control, donde se observa la estructura normal de los túbulos seminíferos. **B**: Grupo expuesto con HgCl_2 1mg/L, observamos obliteración de los túbulos seminíferos. **C**: Grupo tratado con CH_3Hg 0.1 mg/L, se distingue la luz de los túbulos seminíferos. Tinción H&E, fotografías tomadas a 4x.

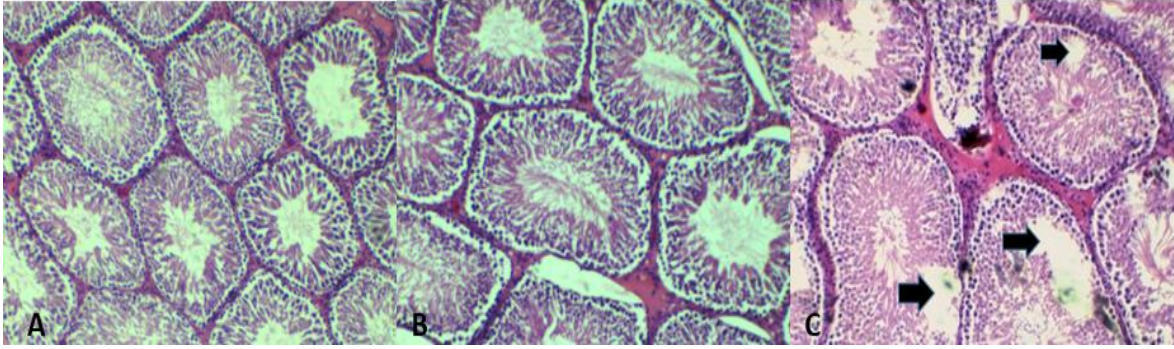
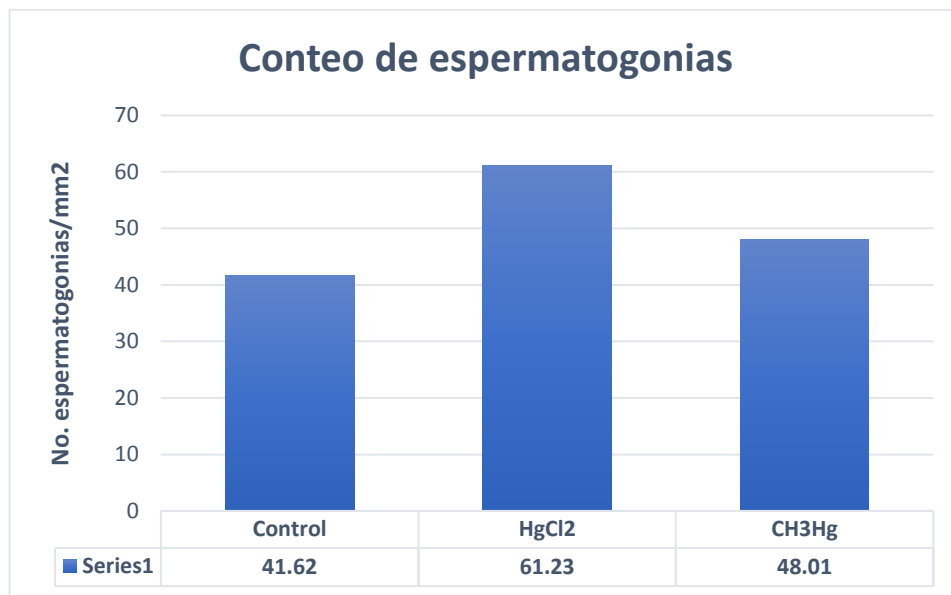


Imagen 2. **Cortes de testículo de rata:** Grupo control, donde se observa la estructura normal de los tejidos. **B:** grupo tratado con HgCl_2 1mg/L una desorganización celular **C:** Grupo tratado con CH_3Hg 0.1 mg/L, se distingue una pérdida de la cohesión celular. Tinción H&E, fotografías tomadas a 4x.



Grafica 2. Conteo de espermatogonias. Se observa un aumento en el número de espermatogonias de los dos grupos tratados con respecto al control, siendo HgCl_2 el grupo mas afectado.

CONCLUSIONES

Se concluye que los compuestos mercuriales HgCl_2 y CH_3Hg pueden representar un riesgo para la salud reproductiva incrementando la infertilidad masculina, en un modelo animal, alterando la morfología y concentración espermática, además de alteraciones histopatológicas en los testículos. El CH_3Hg mostró causar mayor grado de anomalías morfológicas de la cabeza del espermatozoide mientras que el HgCl_2 tuvo mayor repercusión en afectar la concentración espermática. El número de espermatogonias fue más alto en animales expuestos a HgCl_2 , lo que parece indicar que este compuesto inhibe la espermatogénesis por arresto de la hormona FSH. Mientras que CH_3Hg presenta un mecanismo de acción diferente. Por lo tanto, podemos concluir que la exposición

ocupacional, ambiental y alimenticia de los diferentes estados de oxidación del Hg a dosis subtóxicas pueden inducir cambios funcionales y morfológicos en la calidad seminal y en las gónadas masculinas. Por lo tanto, las exposiciones a estos metales pesados deben ser tomados en cuenta cuando se realiza la historia clínica de pacientes masculinos con problemas de fertilidad. Es importante llevar a cabo investigaciones en el ámbito laboral y ambiental de contaminación por mercurio para intentar reducir el efecto perjudicial que tiene sobre la salud reproductiva.

BIBLIOGRAFÍA

1. Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. (2016). Resúmenes de Salud Pública-Mercurio. <https://www.atsdr.cdc.gov/es/index.html>
2. Duruibe J, Ogwuegbu M, E. J. (2007). Heavy metal pollution and human biotoxic effects, 2(5), 112–118.
3. Lozano-kasten, Trasande, Suárez, G., Bopp, & Padilla-Segundo. (2015). Determinación del metilmercurio en cabello de recién nacido como evaluación de exposición gestacional. *ELSEVIER*, 1, 2–7.
4. Lucio, R., Tlachi, L., Lopez, A., Zempoalteca, R., & Velazquez, J. (2009). Analysis of the parameters of the ejaculate in the laboratory Wistar rat: technical description. *Veterinaria México*, 4, 405–415.
5. Martinez, -Caroline, Escobar, A., Guilherme, J., Brum, D., Santos, F., Alonso, M., ... Wiggers, G. (2014). Chronic Exposure to Low Doses of Mercury Impairs Sperm Quality and Induces Oxidative Stress in Rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A: Current Issues*, 77, 143–154.
6. Mendiola, J., Ten, J., Araico, F., Martin-Ondraza, C., Torres, A., Moreno, J., ... Bernabeu, R. (2007). Metales pesados y calidad seminal en humanos. *Revista Internacional de Andrología*, 5(May), 173–180.
7. Mínguez, L., Mendiola, J., & Torres, A. M. (2014). Calidad seminal y toxicidad de metales pesados y plaguicidas. *Revista Salud Ambiente*, 14(1), 8–19.
8. NOM-242-SSA1-2009. Productos y servicios. Productos de la pesca fresco, refrigerados, congelados y procesados. Especificaciones sanitarias y métodos de prueba.
9. OMS. (2013). Mercurio y la salud.
10. Pérez, E. (2007). *Atención integral de la infertilidad*. McGraw-Hill (Vol. 1).
11. Romano, D. (2012). Disruptores endocrinos. *ISTAS*, 1, 55. Retrieved from http://www.elika.net/consumidor/es/preguntas_disruptores.asp
12. Zhu, H., Jia, Y., Cao, H., Meng, F., & Liu, X. (2014). Biochemical and histopathological effects of subchronic oral exposure of rats to a mixture of five toxic elements. *ELSEVIER*, 71, 166–175.

ASIGNACIÓN DE LA CONFIGURACIÓN ABSOLUTA DE CENTROS ESTEREOGÉNICOS EN COMPUESTOS ORGÁNICOS MEDIANTE CÁLCULOS DE QUÍMICA COMPUTACIONAL EN EL SALÓN DE CLASES

Alberto Aristeo Domínguez¹, Ulises Israel Pérez Benítez¹, Abdiel Ramírez Reyes¹, Keops Xeki García Galván¹, José Roberto Contreras Bárbara¹, Oscar R. Suárez Castillo²

¹Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Atitalaquia, ²Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

RESUMEN

En este trabajo se proponen cálculos simples para las tareas de los estudiantes, debido a que en muchas ocasiones los alumnos no comprenden la disposición espacial de los centros estereogénicos mediante el uso del pizarrón de clases por tal motivo se necesita utilizar un software para el entendimiento de las geometrías moleculares. Los compuestos oxindólicos en los cuales se llevó a cabo el análisis conformacional sirvieron como ejemplo para el entendimiento de la geometría molecular y asignación de la configuración absoluta en el salón de clases.

INTRODUCCIÓN

El universo es tridimensional y asimétrico.¹ Esta afirmación tan sencilla presenta profundas implicaciones en química orgánica y en campos relacionados como la farmacología, la bioquímica, la biología, etc. Los seres vivos estamos constituidos por moléculas orgánicas (proteínas, ácidos nucleicos, hidratos de carbono, lípidos), compuestos cuya base principal es el carbono.²

El conocimiento de la simetría, o más bien de su ausencia, en las estructuras de las biomoléculas esenciales para la vida se ha convertido en un aspecto fundamental para la comprensión de los mecanismos de los procesos biológicos y la actividad de los productos bioactivos.^{1,2}

En 1848 Luis Pasteur llamó quiral a los componentes moleculares que adoptan formas de un patrón disimétrico molecular. El término generalmente usado para definir los sistemas en los que la imagen especular no es superponible con el sistema original es *quiral*.³

Pasteur observó que el ácido tartárico tiene dos tipos de cristal con simetría especular, lo que dio origen a la estereoquímica, la cual es una parte de la química que se encarga del estudio de la distribución espacial de los átomos que componen las moléculas y el cómo afecta esto a las propiedades y reactividad de dichas moléculas. La estereoquímica de un compuesto orgánico quiral determina importantes propiedades químicas, físicas y biológicas de este, las moléculas quirales en la naturaleza son llamadas L o D enantiómeros debido a su capacidad que poseen para desviar la luz polarizada hacia la izquierda (L=levo) o hacia la derecha (D=dextro) tal como Pasteur lo reportó desde 1848.

Los genes pueden detectar enantiómeros específicos que le permiten promover la síntesis de proteínas, péptidos³ y hormonas o para su propia autorreplicación.⁴

El fenómeno de la quiralidad ha ido tomando importancia en el transcurso de los años debido al gran número de fármacos que poseen dicha propiedad. Es por esto que el estudio de la estereoquímica es un tema de mucha importancia en los cursos de química orgánica en donde el alumno debe de comprender como asignar la configuración absoluta de los centros estereogénicos en compuestos orgánicos y que mejor si se apoya de un software para la construcción de moléculas quirales y asignación de su configuración absoluta. El alumno puede llevar a cabo un análisis conformacional mediante cálculos sencillos de mecánica molecular implementados en el programa Spartan '04 de moléculas con centros estereogénicos y así mismo asignar la configuración absoluta de dichos centros. Anteriormente las técnicas de química computacional fueron utilizadas solo por expertos en química teórica, con el uso de herramientas que en su mayoría eran difíciles de comprender y aplicar.⁵ Hoy en día los avances en química computacional han producido programas que son fácilmente utilizados por cualquier químico. Suárez y colaboradores llevaron a cabo el modelado molecular de diversos compuestos orgánicos mediante el análisis conformacional usando el método Montecarlo a nivel de mecánica molecular con el campo de fuerza MMFF94 implementado en el programa SPARTAN04.⁶ Desarrollando así una metodología eficiente confiable y reproducible para la asignación de la configuración absoluta en el carbono cuaternario estereogénico C3 de diferentes derivados oxindólicos.^{6,7}

TEORÍA

La nomenclatura de Cahn-Ingold-Prelog conocida también como regla de secuencias es el sistema que ha sido aceptado para nombrar las configuraciones de los centros estereogénicos. A cada átomo de carbono asimétrico se le asigna la letra (*R*) o (*S*) basándose en su configuración tridimensional. Para establecer la configuración *R* o *S* se asignan las prioridades a los cuatro sustituyentes del átomo de carbono asimétrico y posteriormente se nombra a éste basándose en las posiciones relativas de los sustituyentes.⁸

- 1.- A cada grupo enlazado al carbono asimétrico se le asigna una prioridad. El grupo 1 tiene la prioridad más alta, posteriormente el grupo 2, la siguiente el grupo 3 y el grupo 4 tiene la prioridad más baja. Los átomos con números atómicos más altos tienen las prioridades más altas (Figura 1).

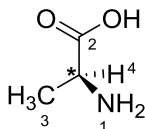


Figura 1. Prioridades de los cuatro sustituyentes del átomo de carbono asimétrico.

- 2.- Utilizando el programa Spartan '04 se hace una representación tridimensional de la molécula y el átomo de prioridad 4 se coloca en la parte de atrás lo más alejado del observador. Se dibuja una flecha desde el grupo de prioridad 1 hacia el segundo y de éste al tercero. Si la flecha va en sentido de las manecillas del reloj, el átomo de carbono asimétrico se conoce como (*R*) (del latín, *rectus*, a la derecha) (Figura 2); si la flecha va en sentido contrario a las manecillas del reloj el átomo de carbono asimétrico se conoce como (*S*) (del latín, *sinister*, izquierda).

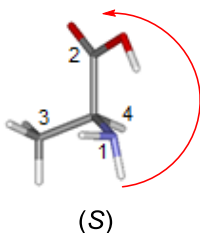


Figura 2. Representación tridimensional de la molécula y sentido de la flecha.

Por otro lado el análisis conformacional constituye un procedimiento de la química computacional dedicado a la búsqueda de los conformeros preferenciales de una molécula, los átomos de una molécula pueden ordenarse espacialmente por medio de la rotación de uno o más enlaces sencillos, debido a que en la mayoría de los casos la energía que se requiere es muy baja (menor de 3-5 kcal/mol a temperatura ambiente), se pueden tener diferentes conformaciones de una misma molécula, algunas de las cuales son más estables que otras. En el estudio conformacional de un compuesto, se analizan únicamente los conformeros predominantes. En el análisis conformacional se describe; la conectividad, configuración y conformación de los átomos que componen la molécula. Existe una amplia variedad de programas comerciales para realizar estos cálculos, actualmente se pueden comparar los cálculos teóricos con los resultados experimentales. Algunos programas que se emplean usualmente para generar modelos útiles en la determinación de la estructura y conformación de una molécula son: Hyperchem de Hypercube Inc., MacroModel de Schrodinger Inc., Gaussian 03 de Gaussian Inc. y el programa Spartan de Wavefunction Inc.

Con el programa Spartan '04 es posible la determinación de conformeros estructurales utilizando como base de cálculo mecánica molecular (MMFF).

Mecánica molecular

En la mecánica molecular se considera a una molécula como una colección de masas centradas en el núcleo de los átomos y que están conectadas entre sí por resortes (enlaces) que se estiran, desplazan y rotan sin romperse ni crearse como resultado de aplicarles un potencial.

La mecánica molecular considera que un conjunto de fuerzas físicas que pueden ser usadas para describir geometrías y energías moleculares. Entonces, el espacio conformacional que se obtiene es un ajuste de geometrías que busca minimizar la energía interna de las moléculas. La mecánica molecular involucra la construcción de un potencial de energía aplicado a un conjunto de posiciones atómicas extraídas experimentalmente para calcular un espacio de conformaciones o simulaciones de dinámica molecular que podrá explicar los estados energéticamente accesibles de un sistema con respecto al tiempo.

De acuerdo con la mecánica clásica la descripción de la energía interna de las moléculas consiste en la suma de la energía cinética, K , y potencial, V ,

$$E = K + V$$

La energía cinética consiste en la suma del movimiento de todos los átomos del sistema controlando, por ejemplo, la temperatura del sistema; la energía potencial consiste en la suma de las interacciones entre los átomos y se divide en dos contribuciones: las que provienen de la interacción de enlace definida por las uniones covalentes y que mantienen a dos o más átomos juntos y la contribución que viene de las interacciones de no enlace. El conjunto de estas interacciones se denomina campo de fuerzas.⁹

PARTE EXPERIMENTAL

Se llevó a cabo el análisis conformacional de las imidas 1 mediante el uso de modelos tipo André Dreiding considerando el análisis conformacional llevado a cabo por Suárez y colaboradores para imidas análogas.^{6,7}

Así, se propone que para ambos diastereoisómeros los confómeros más abundantes son aquellos donde los átomos C8-C9(=O)-N10-C14 se encuentran en un mismo plano y los grupos C9=O y C11=O tienen una disposición *anti*,^{6,7} de tal forma que los sustituyentes en C14 y C8 se proyectan hacia el frente o hacia atrás de dicho plano (Figura 3). Es conocido que la barrera rotacional alrededor del enlace sencillo CH₃-C=O es menor que el giro del enlace sencillo N-C=O,^{6,7} por lo tanto, como se muestra en la figura 3, la libre rotación alrededor del enlace C8-C9 (□) genera los tres confómeros principales I-III. Para ambos diastereoisómeros el confómero I debe ser el más abundante debido a la menor repulsión estérica entre el esqueleto del oxindol y el anillo de feniloxazolidinona.

En el confómero I del diastereoisómero (3*R*,14*S*)-1b (Figura 3, inciso b) la orientación de ambos anillos aromáticos favorece la interacción anisotrópica mutua, mientras que en el confómero I del diastereoisómero (3*S*,14*S*)-1a (Figura 3, inciso a) dicha interacción no se aprecia, lo cual coincide con lo observado por Suárez y colaboradores para imidas análogas.^{6,7}

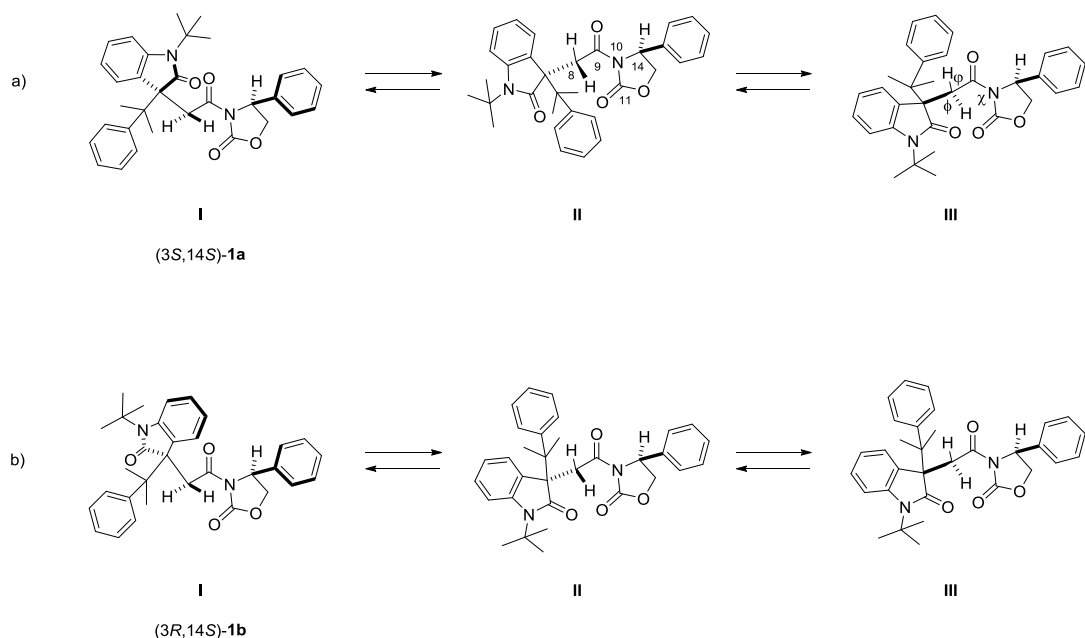


Figura 3. Análisis conformacional de las imidas diastereoméricas (3*S*,14*S*)-1a (a) y (3*R*,14*S*)-1b (b).

Posteriormente se llevó a cabo el estudio conformacional teórico de las imidas 1 usando el método de Monte Carlo a nivel de mecánica molecular con el campo de fuerza MMFF implementado en el programa Spartan '04, con el objetivo de encontrar todos aquellos conformeros que resultan de las interacciones estéricas. Mediante este método se obtuvieron 22 conformeros para la imida (3*S*,14*S*)-1a y 23 conformeros para la imida (3*R*,14*S*)-1b. El gran número de conformeros en cada diastereoisómero se debe a la libertad conformacional presente en los grupos de las posiciones 1 y 3, generando conformeros que muestran diferencias de energía en el rango de 8.3 kcal/mol para (3*S*,14*S*)-1a y 9.75 kcal/mol para (3*S*,14*R*)-1b, con respecto a su mínimo global.

RESULTADOS

Los 22 conformeros para la imida (3*S*,14*S*)-1a y 23 conformeros para la imida (3*R*,14*S*)-1b, representando el 21.54% y 37.41% de sus poblaciones, con diferencias de energía de 8.3 y 9.74 kcal/mol, respectivamente. Adicionalmente, el número de conformeros se redujo mediante la eliminación de aquellos que contribuyen con menos del 1% en la distribución conformacional, resultando 1 conformero para la imida (3*S*,14*S*)-1a y 6 conformeros para la imida (3*R*,14*S*)-1b con poblaciones del 18.87 y 37.13%, respectivamente, en rangos de energía de 0 y 1.93 kcal/mol. Los correspondientes conformeros representativos para (3*S*,14*S*)-1a y (3*R*,14*S*)-1b se muestran en las figuras 4 y 5, mientras que sus energías relativas se muestran en las tablas 1 y 2.

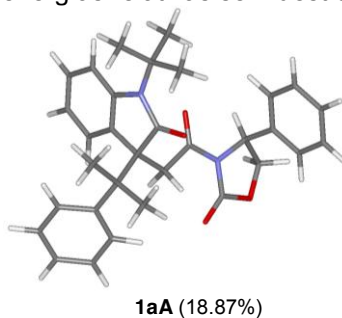


Figura 4. Estructura del conformero de menor energía del diastereoisómero (3*S*,14*S*)-1a obtenido mediante cálculos de mecánica molecular a nivel MMFF.

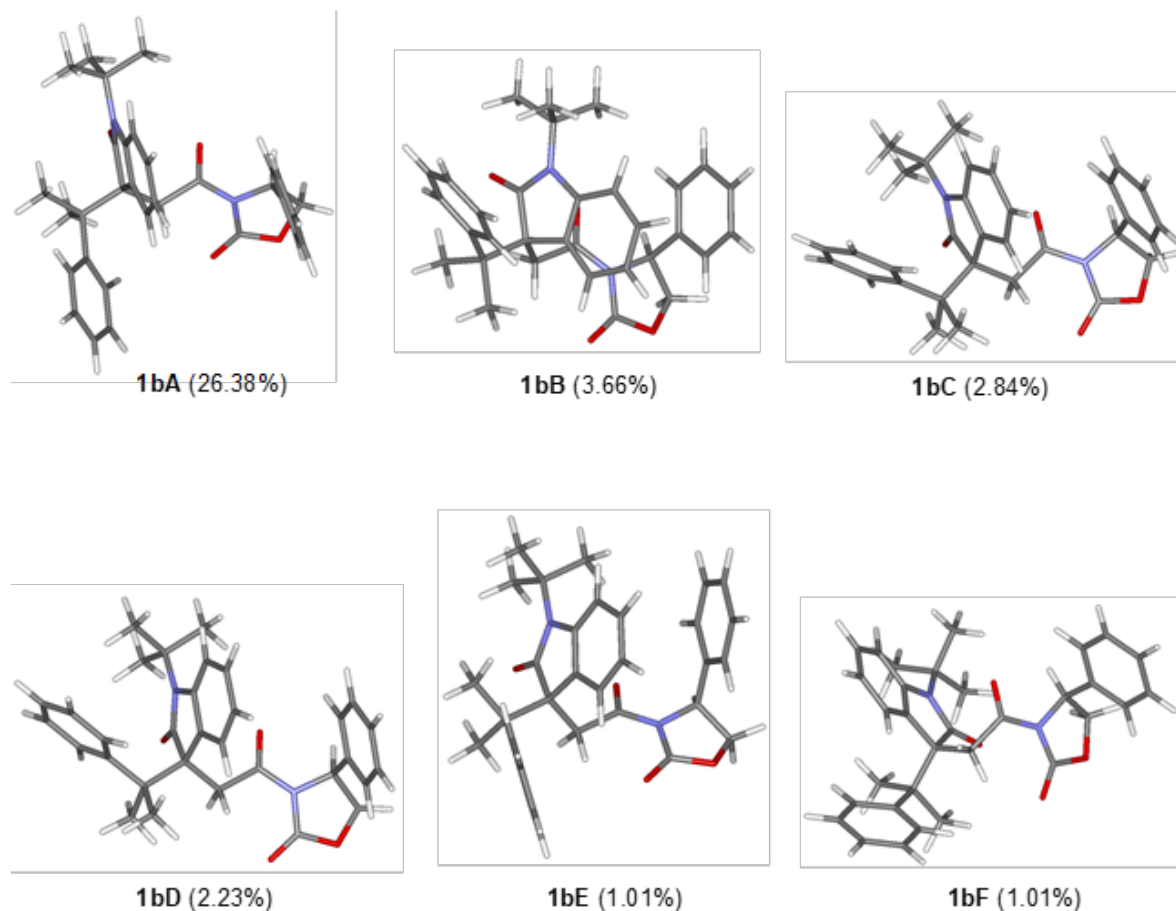


Figura 5. Estructura de los conformeros de menor energía del diastereoisómero (3*R*,14*S*)-1b obtenidos mediante cálculos de mecánica molecular a nivel MMFF.

Tabla 1. Energías relativas en kcal/mol y distribución de Boltzmann (%) de los conformeros de menor energía de la imida (3*S*,14*S*)-1a obtenidos mediante cálculos de mecánica molecular a nivel MMFF.

Conformero	Energía relativa (kcal/mol)	Distribución de Boltzmann (%)
1aA	0	18.8694367
1aB	1.8356721	0.851717257
1aC	1.86205193	0.814629701
1aD	2.36688095	0.347491124
1aE	2.46562699	0.294149014
1aF	2.56557259	0.248491683
1aG	3.72333475	0.035214804
1aH	3.73208663	0.034698488
1aI	4.11705255	0.018119582
1aJ	4.50491729	0.009415884
1aK	4.91771265	0.004691385

Tabla 2. Energías relativas en kcal/mol y distribución de Boltzmann (%) de los conformeros de menor energía de la imida (3*R*,14*S*)-1b obtenidos mediante cálculos de mecánica molecular a nivel MMFF.

Conformero	Energía relativa (kcal/mol)	Distribución de Boltzmann (%)
1bA	0	26.3835065
1bB	1.17032018	3.66050901
1bC	1.32130499	2.83711236
1bD	1.32467104	2.82104085
1bE	1.46407887	2.22961476
1bF	1.93235831	1.01158521
1bG	3.0017994	0.166399181
1bH	3.22578349	0.114020021
1bI	3.80322833	0.043026946
1bJ	4.88541813	0.006926997

CONCLUSIONES

Los compuestos oxindólicos en los cuales se llevó a cabo el análisis conformacional sirvieron como ejemplo para el entendimiento de la geometría molecular y asignación de la configuración absoluta en el salón de clases.

La utilización total del software es difícil y requiere del dominio de diferentes aspectos de la química cuántica y computacional. Sin embargo, es posible su empleo para hacer cálculos sencillos con parámetros estándar que funcionan aceptablemente bien en la mayoría de los casos. Por ejemplo, una vez que el estudiante ha instalado el programa puede hacer modelados de los diferentes compuestos orgánicos quirales con importancia farmacéutica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Seyden-Penne, J. *Chiral Auxiliaries and Ligands in Asymmetric Synthesis*, Wiley, New York, 1995.
2. Bogen J. E., *The neurosurgeon's interest in the corpus callosum. En E. A. History of Neurosurgery in the professional context greenblatt S. H. Ed Park Ridge III Am Assoc of Neurosurgeons*, 1997.
3. Kondepudi D.K., Nelson G.W., *Weak neutral currents and the origin of biomolecular chirality. Nature*, 314, 438-41 (1985).
4. Cook J., *Developmental mechanisms and evolutionary origins of vertebrate left-right asymmetries. Biol Rev.*, 79, 377- 407 (2004).
5. Young D. C., *Computational Chemistry: A Practical Guide for Applying Techniques to Real-World Problems*, Wiley, 2001.
6. Suárez O. R., Meléndez M., Castelán L. E., Zúñiga E. A., Cruz J., Morales-Ríos M. S. y Joseph-Nathan P., *Tetrahedron: Asymmetry*, 22, 2085 (2015).
7. Cordero R. E., Meléndez M, Suárez O. R., Bautista C. I., Trejo N., Cruz J, Castelán L. E., Morales M. S., Joseph P., *Tetrahedron: Asymmetry*, 26, 710 (2011).
8. L. G. Wade, *Química Orgánica*, Pearson. 5ta Edición, 2004.
9. Domínguez L., Bedolla C. A., *Educ. Quím.*, 25, 82-85 (2014).

EFFECTO DEL FRÍO EXTREMO EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE ARABIDOPSIS THALIANA Y SU PERSISTENCIA TRANSGENERACIONAL

Julio Adrián Gómez Villa, Nabanita Dasgupta-Schubert, Luis Villaseñor Cendejas, Marco Aurelio Pardo Galván

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

RESUMEN

Un desafío mayor que enfrenta la vida en el planeta es el cambio climático; el aumento en las desviaciones de las normas de la temperatura del planeta ha ocurrido con mayor frecuencia en los últimos 20 años. Esto ha llevado a grandes daños ambientales por el exceso de lluvias, sequías prolongadas y heladas. Las plantas son las que sufren en mayor medida estos cambios por ser sésiles y así estar íntimamente conectados a su medio ambiente. Para su supervivencia deben adaptar su fisiología a las perturbaciones ambientales de una manera más sensible que otros macroorganismos. Estas perturbaciones generan en las plantas respuestas epigenéticas. La epigenética refiere a los cambios heredables en la expresión de genes que no está relacionado con los cambios en la secuencia de ADN: un cambio en el fenotipo sin un cambio en el genotipo que se hereda a su descendencia (transgeneracionalidad). La regulación epigenética está influenciada por varios factores, entre ellos y de nuestro particular interés, la disminución extrema de la temperatura. En el presente trabajo se describe la respuesta a frío extremo de la germinación de semillas de *A. thaliana*, y la memoria epigenética de esta respuesta. Encontramos que temperaturas de congelación y ultracongelación no afectan la viabilidad seminal y en cambio generan un impulso inicial temprano de la germinación. Como fenotipo, descubrimos un efecto en la temporalidad de la germinación correlacionado a su vez, a la duración del shock térmico.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas se ha estudiado la herencia epigenética, entendida generalmente como la herencia de marcas epigenéticas en el ADN o en las proteínas sobre las que se enrolla el ADN. Existen ejemplos de este tipo de herencia en las plantas y los animales, aunque en algunos casos parece no ser estable a lo largo de muchas generaciones. Muchos de los casos en que se han observado cambios heredables en las marcas epigenéticas corresponden a escenarios en que los organismos están sujetos a algún tipo de estrés (falta de agua, nutrientes, presencia de depredadores, altas o bajas temperaturas, etc.), por lo que se ha propuesto que estos mecanismos pueden ser de gran importancia en la herencia de un estado de respuesta a estrés, lo que a su vez podría aumentar la probabilidad de supervivencia de los descendientes. Un estudio en *Arabidopsis thaliana* muestra claramente este tipo de fenómeno¹, cuando esta planta es sometida a diferentes tipos de estrés, se desencadena la expresión de genes relacionados con la respuesta a estrés, expresión que puede ser rastreada a través de marcas de color que son introducidos a la planta. Dichas marcas de color se ven en las plantas estresadas, e incluso se ven también en las plantas hijas de estas, aun cuando los estímulos de estrés han dejado de ser aplicados.

La importancia de los procesos epigenéticos en el desarrollo de los seres vivos es ya innegable, pero aún se debate respecto a su relevancia en términos evolutivos. Algunas de las preguntas que habrá que abordar para evaluar la importancia de estos factores en la generación de nuevas especies, tienen que ver con qué tan común es la herencia de marcas epigenéticas de generación en generación, qué la regula, cuántas generaciones puede persistir y cómo pueden mantenerse en una población.

TEORÍA

En plantas, un objetivo fundamental relacionado a su evolución, ecología y biotecnología es saber en qué grado la variación en caracteres podrían ser heredables, ya que la herencia determina el potencial y capacidad adaptativa al medio ambiente cambiante. Una habilidad particularmente importante de las plantas es la plasticidad fenotípica, esto es la habilidad genotípica de expresar diferentes fenotipos en distintos ambientes. Esta característica es esencial para organismos sésiles como las plantas, que deben adaptarse a un medio ambiente espacial y temporalmente heterogéneo. Muchos caracteres complejos de importancia ecológica y biotecnológica como tiempo de floración,

producción y resistencia a sequía, se ha considerado que son el producto de la interacción de múltiples genes. Sin embargo, investigaciones recientes han revelado que la variación de algunos caracteres heredables podría ser causada por variación epigenética. Por más de cinco décadas, se ha considerado como única fuente de evolución a los cambios de secuencia nucleotídica en el ADN de un organismo. Sin embargo, recientemente se han descubierto mecanismos moleculares que implican modificaciones químicas en la cromatina que no alteran la secuencia de bases del ADN, pero que sí influyen un carácter o fenotipo en un ser vivo suprimiendo o estimulando la expresión o actividad de un gen; a esto se le conoce como epigenesis². Estas modificaciones químicas se dan principalmente en el ADN y en las histonas; así, el control epigenético de la expresión génica está mediado por cambios específicos en la estructura de la cromatina. La unión a proteínas cromosómicas específicas, modificaciones postraduccionales de las histonas y metilación del ADN son algunos de los mecanismos implicados en el control de los estados de accesibilidad cromatínica. Desde un punto de vista evolutivo, la discusión actual se centra en determinar el valor adaptativo de variaciones epigenéticas y, desde el punto de vista biotecnológico, si estas variaciones nos permiten optimizar procesos de eficiencia y producción de plantas de interés ecológico y agrícola.

En plantas se han reportado numerosos procesos relacionados al desarrollo en los que se ha podido demostrar que son modulados por modificaciones epigenéticas. Entre estos procesos se encuentran la floración, tamaño radicular, simetría foliar, generación de semillas y, de particular interés al presente proyecto, la germinación.

El desarrollo en plantas es plástico y fuertemente influenciado por factores bióticos y abióticos. Las plantas requieren de una interacción específica entre programas de desarrollo y rutas de señalización provenientes de estímulos externos que han de ser coordinadas a nivel de la organización cromatínica.

Las plantas emplean las estrategias de regulación epigenética para mantener su plasticidad. Estos mecanismos les permiten una rápida adaptación a nuevas condiciones sin necesidad de cambiar su secuencia de ADN.

Un gran número de eventos epigenéticos reportados en plantas persisten solamente durante las generaciones celulares mitóticas en un individuo (intraorganismal), mientras otras son estables durante la mitosis y la meiosis (transgeneracional). A pesar de que con frecuencia se reportan estudios que sustentan un papel importante de los mecanismos epigenéticos en el control de procesos en plantas, poco se ha investigado acerca del impacto y que parámetros abióticos del medio ambiente pudieran tener sobre fenotipos epigenéticos a través de varias generaciones (transgeneracionalidad). Esto sorprende debido a su evidente importancia en la capacidad adaptativa de la planta a condiciones abióticas adversas, concepto evolutivo central para biólogos, y de productividad para biotecnólogos³. Lo anterior nos indica además que es imperativo elucidar el papel que juegan genes que responden a estrés abiótico, sus perfiles de expresión diferencial en su relación con mecanismos de control epigenético y su memoria transgeneracional.

Las bajas temperaturas en el desarrollo de plantas. Un factor abiótico clave en el desarrollo de una planta es la temperatura. Toda planta posee una temperatura óptima de crecimiento, floración, generación de semillas y germinación. Variaciones drásticas en la temperatura afecta su viabilidad y compromete su supervivencia ya que a bajas temperaturas el agua contenida en las células forma cristales dañando las membranas celulares. Para productores de plantas de interés agronómico, las variaciones en las condiciones climáticas extremas que se radicalizan año con año repercuten fuertemente en la productividad y en la calidad del producto. Las bajas temperaturas son un factor importante que determina la distribución geográfica de las especies y de los cultivos. Los daños a los cultivos son cuantiosos; por ejemplo, se estima que un descenso de 1°C en la temperatura promedio anual, provocaría una disminución del 40% en la cosecha mundial de arroz. La expectativa de utilizar cultivos resistentes a bajas temperaturas en regiones de clima frío se basa en las posibilidades de manipular las respuestas naturales de las plantas a esas temperaturas. En los últimos años se han realizado esfuerzos para conocer la forma en que las plantas "censan" el ambiente y responden a los cambios ambientales por la aplicación potencial de este conocimiento. Los principales aspectos que influyen en la sensibilidad de los vegetales al frío son la especie, la edad, la historia previa y las condiciones ambientales⁴.

En general, las plántulas muy jóvenes y las semillas en germinación son las más afectadas por las bajas temperaturas, mientras que las semillas dormantes son las más resistentes ya que presentan

un gen llamado COR47, una deshidrina que le confiere resistencia a la desecación y bajas temperaturas.

En el transcurso de la evolución, las plantas adquirieron numerosos mecanismos de supervivencia relacionados con el frío. Para sobrevivir a este estrés, las plantas usan mecanismos de tolerancia que es la capacidad de resistir las alteraciones que ocasiona el frío a través de mecanismos internos extremadamente complejos que están controlados por genes inducidos por las bajas temperaturas (COR47)⁵.

Una de las estrategias de tolerancia es la aclimatación al frío, proceso por el cual las plantas aumentan su tolerancia al congelamiento después de ser expuestas a bajas temperaturas por un período de tiempo. De hecho, se ha encontrado que plantas expuestas a pequeños periodos de estrés térmico (altas o bajas temperaturas) pueden posteriormente tolerar temperaturas que normalmente son letales⁶. Esta tolerancia adquirida involucra cambios en la expresión genética que se traducen en cambios cualitativos en el patrón de proteínas sintetizadas, que como ya comentamos, podrían ser controlados por mecanismos epigenéticos.

En general, las plantas aclimatadas sobreviven con mayor cantidad de agua congelada en sus tejidos; la resistencia a la congelación depende, tanto de la capacidad de los espacios extracelulares para controlar el volumen del cristal como de la capacidad del protoplasto de resistir a la deshidratación. Se ha observado que la aclimatación al frío está correlacionada con una disminución del potencial osmótico y la estabilización de las membranas contra el daño por congelamiento⁷. El daño a las membranas se reduce al aumentar los ácidos grasos insaturados que las constituyen. La adquisición de la tolerancia al congelamiento ocurre en un plazo de pocos días, e implica una rápida inducción y síntesis de proteínas protectoras, así como de enzimas responsables de la síntesis de azúcares tales como sacarosa, rafinosa y fructosa, que evitan la formación de hielo intracelular al disminuir la temperatura de congelamiento del agua.

Se han descrito varios mecanismos moleculares involucrados en la respuesta de aclimatación al frío⁵. En *Arabidopsis thaliana* las bajas temperaturas inducen la síntesis de factores de transcripción, como a DREB1, involucrado en la inducción de los genes COR (cold-regulated genes). Aunque aún se desconoce la función precisa de las proteínas codificadas por los genes COR, se les considera parte del grupo de las deshidrinas⁸, y se ha podido demostrar que juegan un rol relevante en la tolerancia a frío, especialmente COR47 en *A. thaliana*.^{5,6}

Germinación. La semilla corresponde al óvulo maduro de las plantas con flores y consiste fundamentalmente en una cubierta seminal, material de reserva y el embrión. La cubierta seminal o testa, normalmente está formada por uno o dos integumentos, su estructura es altamente variable pudiendo endurecerse con depósitos de lignina o cutina y fenoles, lo que puede hacerla extremadamente resistente y/o impermeable.

El tejido de reserva es el endospermo originado de los núcleos polares después de la fertilización y queda formado por células triploides. El embrión crece después de ser fertilizado y termina con diversos grados de desarrollo según la especie como el ápice caulinar, radical y uno o dos cotiledones.

La formación de una semilla se inicia con el establecimiento de la polaridad conducente a la aparición de las zonas caulinar y radical, y pueden distinguirse cuatro etapas: 1) la histodiferenciación, con formación de las primeras estructuras embrionarias 2) la expansión celular y depósito de reservas que implica una fuerte vacuolización; 3) la maduración con disminución del metabolismo y síntesis del ARNm de proteínas LEA ("last embryogenesis abundant") altamente hidrofílicas y 4) la adquisición de la dormancia⁹. A partir de una semilla dormante se da la germinación.

El concepto de germinación comprende a todos aquellos cambios que van desde el inicio de la rehidratación (imbibición) de la semilla hasta el inicio del crecimiento de la radícula que culmina con la ruptura de las envolturas seminales; esto se ajusta al criterio botánico que considera germinada a las semillas cuando alguna parte del embrión emerge de las envolturas. Los acontecimientos siguientes, que incluyen la movilización de las reservas mayores, se asocian con el crecimiento de la plántula en el proceso conocido como "emergencia" y que culmina en la fotoautotrofia.

Se han descrito tres grandes etapas en la germinación: (1) Rehidratación o imbibición: implica una rápida entrada inicial de agua debida al elevado potencial hídrico de las semillas y que genera un gran aumento de volumen (entre 40 y 60%), lo que a su vez induce el lixiviado de solutos y metabolitos de bajo peso molecular hacia el medio. (2) Germinación en sentido estricto o fase

estacionaria: A consecuencia de la imbibición, la semilla reanuda su actividad metabólica y lo primero que se observa es el aumento de la actividad respiratoria, con un importante consumo inicial de oxígeno, gracias a las hidrolasas que están presentes en la semilla seca. También se activan la vía glicolítica y la de la pentosa-fosfato, se reparan y activan organelos (particularmente mitocondrias) y se reanuda la síntesis de proteínas que, inicialmente, depende de los ribosomas existentes; a las pocas horas hay síntesis de nuevos ribosomas a partir de los ARNm preformados almacenados y de las proteínas LEA presentes en el embrión¹⁰. (3)Crecimiento o ruptura de testa: es la salida de la radícula a través de las cubiertas motivada por elongación celular¹¹. Este evento marca el fin de la germinación.

Durante la imbibición, además de la reactivación metabólica se da una reactivación transcripcional. Recientemente se ha reportado en *A. thaliana* que los niveles transcripcionales de numerosos genes se alteran durante la imbibición¹². Estos cambios en la expresión génica se asocian a modificaciones en la cromatina, por lo que se asume que la reactivación transcripcional está bajo control de mecanismos epigenéticos.

La fitohormona ácido abscísico (ABA) juega un papel central en la regulación positiva de la maduración de la semilla y en la dormancia, y regula negativamente a la germinación. La acción de ABA durante la maduración de la semilla y la dormancia está relacionada con la expresión de cuatro reguladores transcripcionales maestros: LEAFY COTYLEDON 1 (LEC1), LEC2, FUSCA 3 (FUS3) y ácido abscísico insensible 3 (ABI3).¹¹ Estos reguladores centrales se reprimen durante la imbibición y se mantienen reprimidos a lo largo del desarrollo de la planta hasta el comienzo de una nueva generación. Por otro lado, la fitohormona giberelina promueve la germinación y genera una influencia negativa sobre la acción de ABA. De esta manera, la reprogramación transcripcional durante la germinación requiere, simultáneamente, de la represión de genes embrionarios (entre los que se incluye maduración y dormancia) y la activación de genes dirigidos hacia el crecimiento fotoautotrófico. Se ha encontrado que en el proceso de silenciamiento epigenético que se da durante la germinación interviene el Complejo Represivo Polycomb 2 (PRC2, por sus siglas en inglés), que además de intervenir en la reprogramación de la germinación, también interviene en la floración¹³.

La acetilación de histonas es un mecanismo de activación epigenética ampliamente estudiado. En breve, la unidad básica del cromosoma eucariótico es el nucleosoma, que consiste en un complejo histónico (H2A, H2B, H3 y H4) rodeado por aproximadamente 146 pares de bases de ADN y una histona de unión nucleosómica H1. La estructura del nucleosoma depende de las variantes histónicas y las modificaciones postraduccionales en los extremos N-terminales de las histonas. Por ejemplo, la acetilación de histonas impide la compactación entre los nucleosomas y con ello permite la interacción de los factores transcripcionales en esa región. Por el contrario, las histonas hipoacetiladas se compactan e impiden que esa región de ADN interactúe con factores transcripcionales y por lo tanto la región es transcripcionalmente inactiva.

Se ha encontrado que para el inicio de la germinación (durante la imbibición), la cromatina de los genes de maduración y dormancia se desacetilan y con ello, se silencian; en contraste, los genes involucrados en el desarrollo germinal se acetilan, y en esto están involucrados genes que codifican para acetiltransferasas como HAT, estudiados principalmente en maíz. En cuanto al silenciamiento por desacetilación, en *A. thaliana* se ha reportado que los genes que codifican para las desacetilasas de histonas del grupo HDAC/HD juegan un rol importante en el inicio de la germinación. En especial HD2C que pertenece al grupo HD2 histonas desacetilasa en el cual se encuentran 4 genes específicos de plantas e identificados en *Arabidopsis*, HD2A, HD2B, HD2C Y HD2D, en el cual HD2C juega un papel preponderante. Mutantes de *A. thaliana* en HD2C presentan una dormancia extendida y graves defectos de germinación¹⁴. Así, la expresión de HD2C en *A. thaliana* representa un excelente referente del inicio de la germinación.

PARTE EXPERIMENTAL

Encontrar una temperatura bajo 0 para aplicar a las semillas en diferentes tiempos que sea casi letal para los embriones y que se presente en el ambiente, además probar sus límites de tolerancia al frío, es por lo que usaremos temperaturas de -20 y -80°C.

Lavado aséptico de semillas de *Arabidopsis thaliana* tipo silvestre (Col 0): agregar a las semillas 1mL de cloro al 20% durante 5min y agitar, decantar el cloro y agregar 1mL de alcohol al 96% durante 5min y agitar, decantar el alcohol y agregar 1mL de agua destilada estéril durante un minuto y agitar,

decantar el agua y volver a agregar 1mL de agua destilada estéril durante un minuto agitando y repetir este mismo paso 7 veces, agregar 1mL de agua destilada estéril y guardar a 4°C durante 48 horas.

Pasadas las 48 horas en campana de flujo laminar eliminamos el agua y las semillas las pasamos a cajas Petri dejándolas un tiempo para la evaporación del agua remanente.

Ya eliminada el agua pasamos las cajas Petri con semillas a una cámara de crecimiento que presenta condiciones bien controladas (fotoperiodo, temperatura y humedad) y las dejamos por una hora para su aclimatación a 22°C.

Pasada la hora aplicamos shock frio a las semillas tanto para -20 como -80°C en diferentes tiempos (1 h, 2 h, 4 h, 8 h, 12 h, 14 h, 16 h, 24 h y 48 h).

Terminado su tiempo de shock las semillas son sembradas en medio MS para su germinación.

Para medir los porcentajes de germinación se monitorean cada 24 horas durante 10 días y se cuentan las semillas germinadas.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos a -20°C (grafica 1) y -80°C (grafica 2) nos muestran claramente que la temperatura no afecta la viabilidad germinativa si no que al contrario, se ve beneficiada con respecto al control en tratamiento de una hora de shock, al menos a -20°C y para comprobar si realmente beneficiaba hicimos pruebas con diferentes lotes de semillas: lote 1 con 2 años de antigüedad (grafica 3) y lote 2 con 3 años de antigüedad (grafica 4) y monitreamos hasta 5 días su germinación y observamos una potencialización de la germinación muy significativa de 6 hasta 14 veces más que el control.

En la gráfica 1 y 2 también observamos una atemporalidad de la germinación en los tratamientos de 24 y 48 horas, mostrando un retraso en la germinación, recuperando su tasa de germinativa a las 72 y 96 horas.

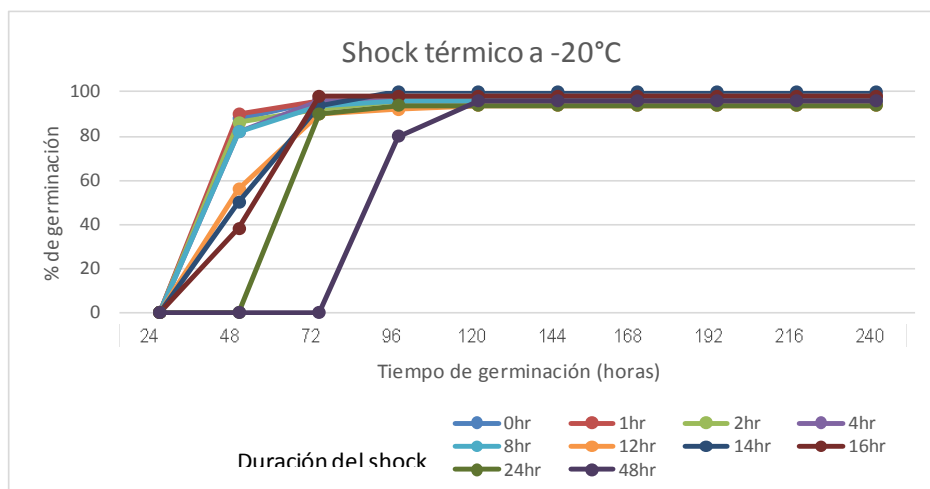


Figura 1. Germinación de semillas expuestas a shock de -20°C a diferentes tiempos (1,2,4,8,12,14,16,24 y 48 horas). En el eje de las X tenemos las horas de germinación y en el eje de las Y los % de germinación.

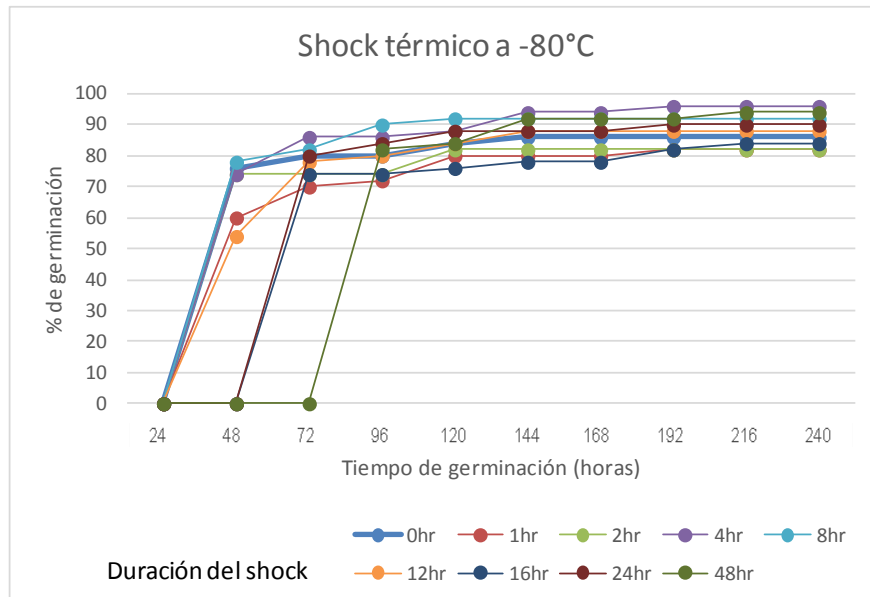


Figura 2. Germinación de semillas expuestas a shock de -80°C a diferentes tiempos (1,2,4,8,12,14,16,24 y 48 horas). En el eje de las X tenemos las horas de germinación y en el eje de las Y los % de germinación.

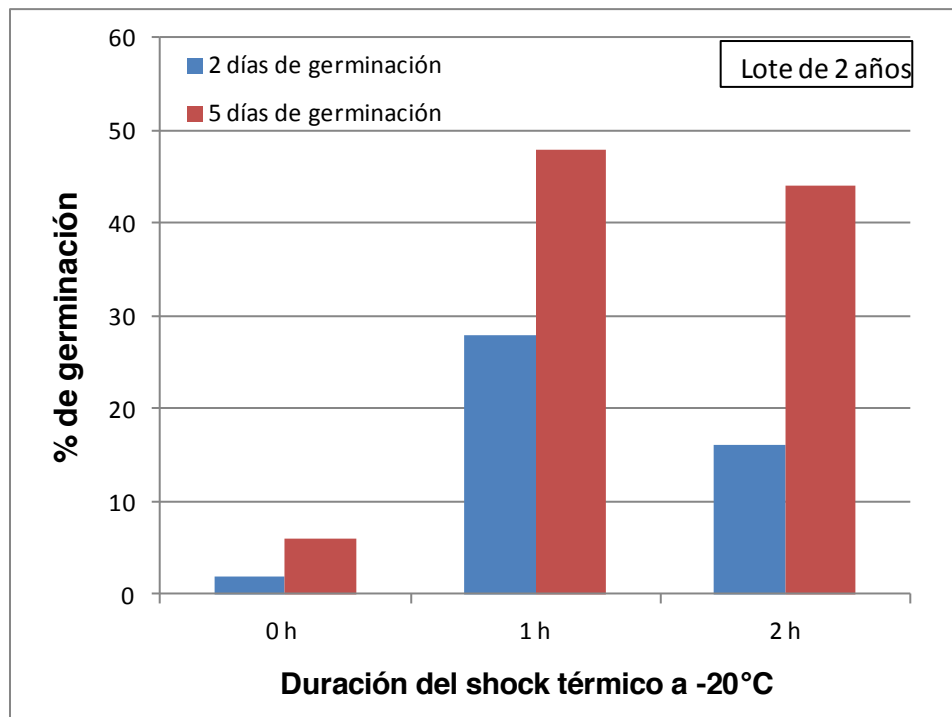


Figura 3. Se presentan los porcentajes de germinación de un lote de semillas de 2 años de antigüedad. En el eje de las X tenemos las horas de germinación y en el eje de las Y los % de germinación.

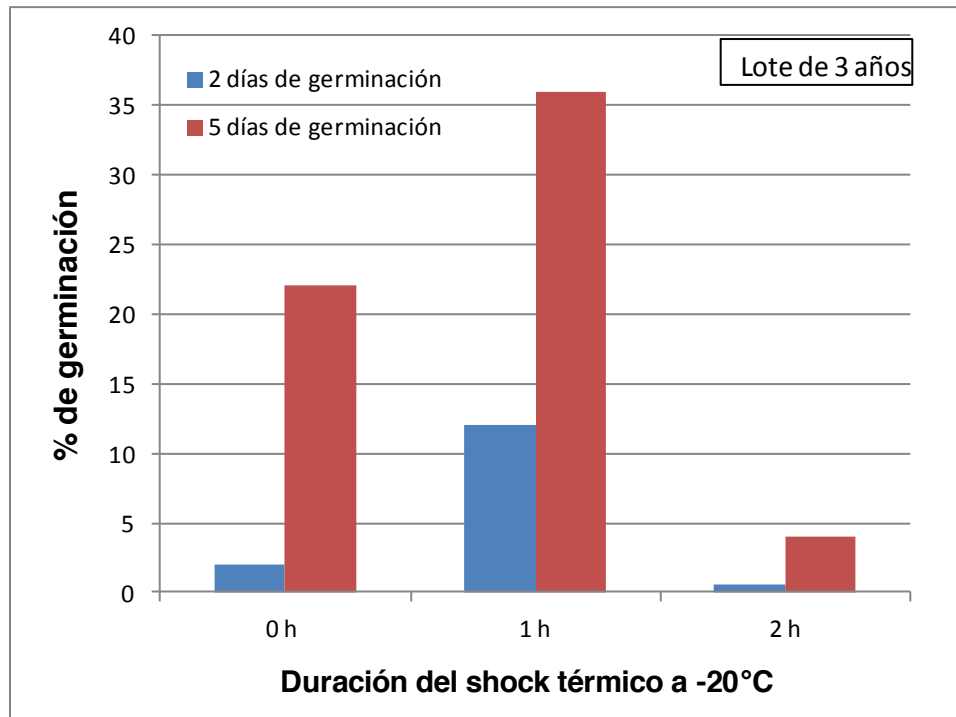


Figura 4. Se presentan los porcentajes de germinación de un lote de semillas de 3 años de antigüedad. En el eje de las X tenemos las horas de germinación y en el eje de las Y los % de germinación.

CONCLUSIONES

Las temperaturas de congelación y ultracongelación no afectan la viabilidad seminal ni el proceso germinativo y, en cambio, generan un impulso inicial temprano de la germinación.

BIBLIOGRAFÍA

1. C. Lang-Mladek, O. Popova, K. Kiok, M. Berlinger, B. Rakic, W. Aufsatz, C. Jonak, M. T. Hauser, C. Luschig, "Transgenerational inheritance and resetting of stress-induced loss of epigenetic gene silencing in Arabidopsis", *Mol. Plant.*, Vol. 3, 3, 2010, 594-602.
2. C. Wu, J. R. Morris, "Genes, genetics, and epigenetics: a correspondence", *Science*, Vol. 293, 5532, 2001, pp. 1103-1105.
3. R. T. Grant-Downton, H. G. Dickinson, "Epigenetics and its implications for plant biology 2: the "epigenetic epiphany": epigenetics, evolution and beyond", *Ann. Bot. (Lond.)*, Vol. 97, 2006, pp. 11- 27.
4. A. Olivares, M. Johnston, G. Fernandez, "Efecto de la temperatura en la germinación de siete especies de la pradera anual mediterránea y caracterización de su emergencia", *Simiente*, Vol. 60, 1990, pp. 123-131.
5. M. F. Thomashow, "Plant Cold acclimation: freezing tolerance genes and regulatory mechanisms", *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* Vol. 50, 1999, pp. 571-599.
6. D. Y. Sung, F. Kaplan, K. J. Lee, C. Guy, "Acquired tolerance to temperature extremes", *Trends Plant Sci.*, Vol. 8, 2003, pp.179-187.
7. J. P. Palta, B. D. Whitaker, L. S. Weiss, "Plasma membrane lipids associated with genetic variability in freezing tolerance and cold acclimation of Solanum species", *Plant Phys.*, Vol. 103, 1993, pp- 793-803.
8. T. Puhakainen, M. W. Hess, P. Mäkelä, J. Svensson, P. Heino, E. T. Palva, "Overexpression of multiple dehydrin genes enhances tolerance to freezing stress in Arabidopsis", *Plant Mol Biol.*, Vol. 54, 5, 2004, pp. 743-753.

9. C. W. Vertucci, J. M. Farrant. "Acquisition and loss of desiccation tolerance" in *Seed Development and Germination* (Marcel Dekker Inc., New York, NY, 1995), pp. 237-272.
10. J. D. Bewley, "Seed germination and dormancy", *The Plant Cell*, Vol. 9, 1997, pp. 1055-1066.
11. M. J. Holdsworth, L. Bentsink, W. J. Soppe, "Molecular networks regulating Arabidopsis seed maturation, after-ripening, dormancy and germination", *New Phytol.* Vol. 179, 2008, pp. 33-54.
12. S. Footitt, I. Douterelo-Soler, H. Clay, W. E. Finch-Savage, "Dormancy cycling in Arabidopsis seeds is controlled by seasonally distinct hormone-signalling pathways", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 108, 2011, pp. 20236-20241.
13. D. Bouyer, F. Roudier, M. Heese, E. D. Andersen, D. Gey, M. K. Nowack, J. Goodrich, J. P. Renou, P. E. Grini, V. Colot, A. Schnittger, "Polycomb repressive complex 2 controls the embryo-to-seedling phase transition", *PLoS Genet.*, Vol. 7, 2011, pp. e1002014.
14. A. Colville, R. Alhattab, M. Hu, H. Labbe', T. Xing, B. Miki, "Role of HD2 genes in seed germination and early seedling growth in Arabidopsis", *Plant Cell Rep.*, Vol. 30, 2011, pp. 1969-1979.

MAQUILLAJE EN CREMA PARA PIEL SECA Y GRASA

María Teresa Fuentes Romero, Miriam Hernández Anaya, María Guadalupe Hernández Medina,
Rafael Camacho Ramirez

Universidad Tecnológica Fidel Velazquez

RESUMEN

El uso del maquillaje en la sociedad ha ido incrementando a lo largo del tiempo. Se realizó un maquillaje en crema, para piel tipo grasa y seca, utilizando materiales que ayudan al cutis en cuanto al tipo de piel, como: emulgentes, aceites, esencias y dióxido de titanio aprovechando las propiedades que estos tienen para el cuidado de la piel.

La nanotecnología, para la aplicación de maquillajes presenta ventajas en cuanto a la producción de estos, buscando implementar las propiedades del ZnO que pueden ayudar al cuidado de la piel, como son: actividad fotocatalítica, antimicrobiana y protección UV.

Para determinar si el ZnO se implementó satisfactoriamente en la producción del maquillaje se realizaron caracterizaciones mediante difracción de rayos X (DRX) para corroborar su incorporación adecuada con los materiales antes mencionados, espectroscopia ultravioleta visible (Uv-Vis) para determinar la cantidad de absorción de luz que contiene y saber el grado de protección que va a proporcionar a la piel.

INTRODUCCIÓN

El sol emite energía en una amplia gama de longitudes de onda, la energía que recibe la Tierra se clasifica como: luz visible, que estimula la retina; infrarroja, responsable de la sensación de calor y la ultravioleta; esta última se subdivide en tres bandas: UVA, UVB y UVC. Dichos rayos solares son los principales causantes del envejecimiento de la piel, quemaduras, manchas e inclusive enfermedades como el cáncer. Por esta razón, se recomienda altamente utilizar algún tipo de bloqueador cuando la piel se expone al sol, independientemente si va a ser por un corto o largo tiempo. La radiación ultravioleta es la que más daño causa en la capa de la piel, es decir, la epidermis, pues puede alterar las moléculas de ADN. Es importante tener en cuenta la importancia del cuidado de la piel, ya que se puede tener repercusiones graves si no se asiste de manera adecuada. Según su modo de acción, los filtros solares se clasifican en: físicos, químicos y biológicos. Los filtros químicos son compuestos orgánicos que absorben radiación UV. Son sustancias sintéticas, es decir artificiales, y algunos al ser absorbidos por el cuerpo pueden causar alergias y otros problemas de salud. Los filtros Físicos son de amplio espectro; retienen las radiaciones solares de la zona del ultravioleta y también las del visible y las del infrarrojo. En ocasiones se les denomina «ecran» (pantalla), y se utilizan para evitar tanto el eritema como el bronceado. Una innovación en el desarrollo de los protectores reside en el empleo de pigmentos micronizados, con un tamaño de partícula entre 10 y 50 nm, formulados en una base adecuada (crema, loción). Su mecanismo de acción no ocasiona perturbación cosmética alguna es decir, no blanquean la piel.

La nanotecnología presenta grandes aplicaciones en cuanto a cosméticos, por ejemplo cremas hidratantes, productos para el cuidado del cabello, maquillaje y protectores solares. En protectores solares convencionales de alto nivel de protección (SF30+), se utilizan partículas de TiO₂ y ZnO de tamaño de micrón y la crema tiene un aspecto blanquecino y espeso. Sin embargo, si se usan nanopartículas, el protector solar se vuelve transparente a simple vista y continúa reflejando los rayos UV. Por tanto, estos nanoprotectores solares ofrecen el mismo nivel elevado de protección pero ya no son una sustancia blanca espesa, sino transparente y más fluida. Se adsorben mejor y se pueden extender con mayor facilidad, ofreciendo así una protección excelente.

PARTE EXPERIMENTAL

Crema de belleza tipo velvin-cream (cutis seco)

Precursores

- Parafina clase extra
- Esperma de ballena
- Vaselina filante

- Estearina de primero
- Dióxido de titanio
- Esencia de rosas de la mejor clase posible
- Aceite de vaselina medicinal

A excepción del dióxido de titanio y de la esencia de rosas, los demás componentes de la fórmula se agregan a un recipiente esmaltado por su interior. Se calienta a fuego lento hasta que todo se funda, procurando no sobrepase los 70°C de temperatura.

Se mantiene en agitación constante, incorporándole de poco a poco el dióxido de titanio mediante un tamiz de malla fina.

Posteriormente y con agitación constante, agregar la esencia de rosas.

Agitar hasta lograr una mezcla de aspecto homogéneo.

Crema tipo "grasa"

Precursores

- Emulgente (estearato-cetil de trietanolamina)
- Vaselina filante
- Aceite de vaselina
- Agua destilada
- Lanolina

Se coloca a fuego una vasija de hierro esmaltada, se grega el emulgente y los precursores a excepción del agua

En otro recipiente se calienta el agua

Posteriormente el agua se agrega poco a poco en la vasija con los precursores y emulgente retirándola del fuego, posteriormente se le agrega la esencia deseada y se deja enfriar.

Finalmente se pasa al molde deseado y se lleva a caracterizar

Conservación de cremas se usaron los siguientes componentes:

- ✓ Para-oxibenzoato de metilo
- ✓ Closoresol
- ✓ Benzoato de Sodio
- ✓ Nipagin

RESULTADOS

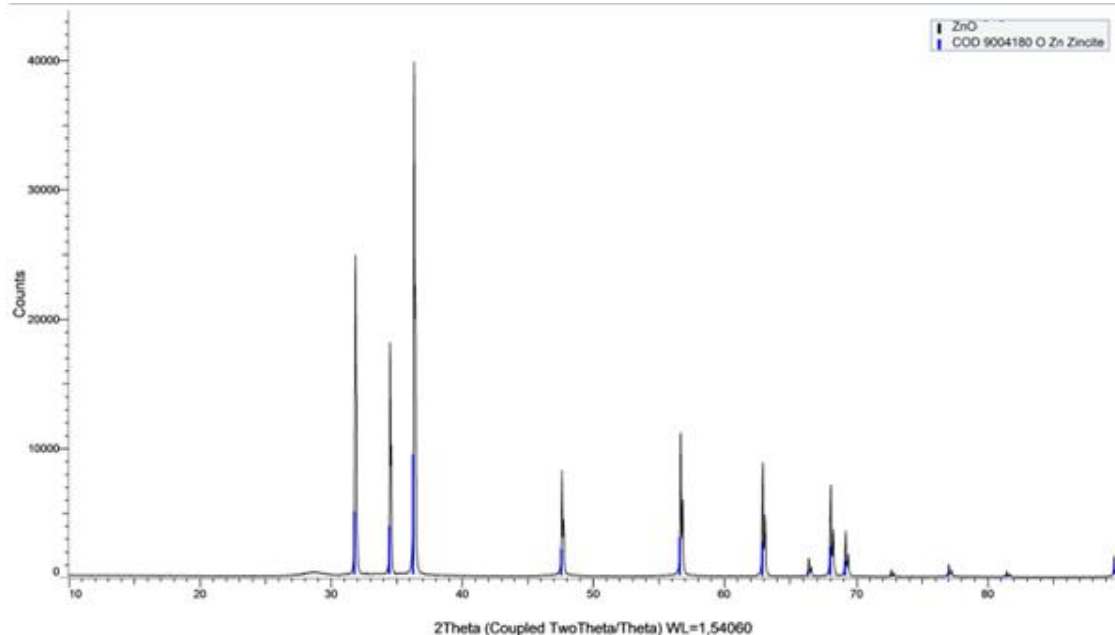


Fig. 1 Caracterizaciones mediante Difracción de Rayos X (ZnO)

Mediante la técnica de difracción de Rayos X se determinó la fase Zincita del material, así como la estructura cristalina de tipo hexagonal que presenta. Los picos azules representan la carta de difracción que coincide con el ZnO y los picos negros el ZnO presente en el maquillaje. (Fig 1)

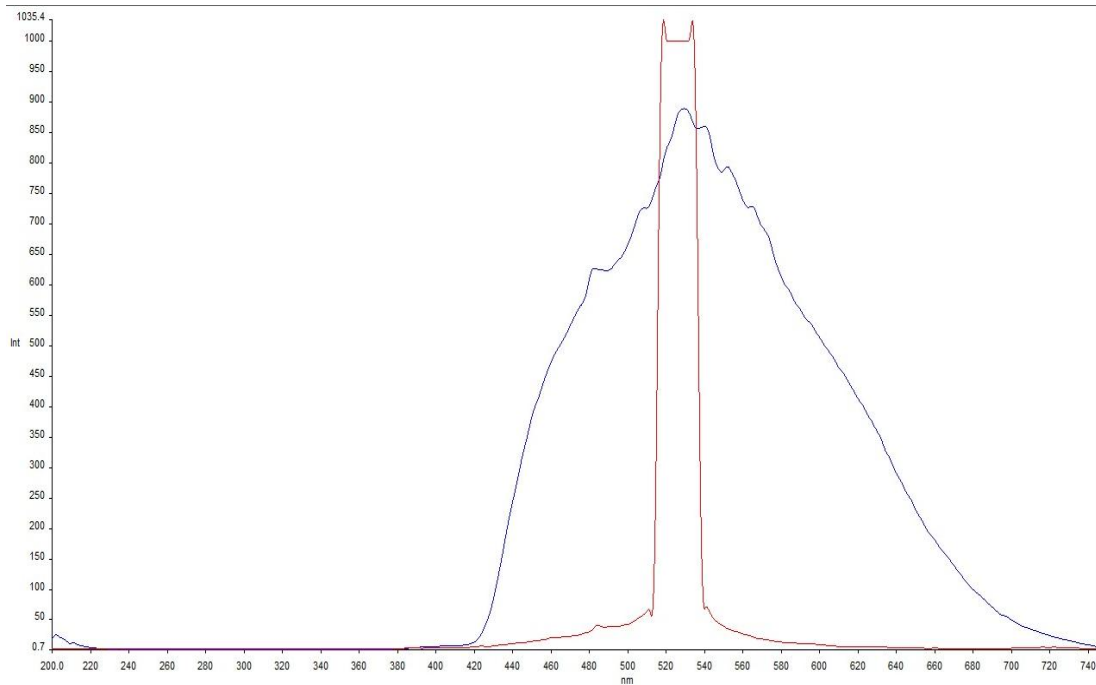


Fig. 2 Caracterizaciones mediante Espectroscopia Ultravioleta Visible

Los resultados obtenidos mediante espectroscopia Ultravioleta Visible nos permiten determinar la absorción de nuestro material que se da entre 470-530 nm aproximadamente, en la región Ultravioleta-Visible y emisión entre 510-540 nm aproximadamente.(Fig.2) Esta caracterización se realizó con el fin de obtener la absorción de luz UV-VIS que presenta y el grado de protección que va a proporcionar a la piel.

CONCLUSIONES

La elaboración del maquillaje tipo cremas para cutis graso y seco, se efectuó de la mejor manera posible. Logrando obtener un maquillaje para la incorporación de las nanopartículas de ZnO, realizando la función de protector solar, contribuyendo a resolver el foto envejecimiento, que son los daños causados por la exposición al sol, y que es acumulada durante toda la vida. Para esta exposición diaria, se pueden considerar el uso de cremas, con los ingredientes adecuados y aplicados de la manera correcta, protegiendo así la piel. Por esta razón se ha desarrollado un campo de investigación hacia productos innovadores como los bloqueadores para la protección de la piel. La incorporación de las nanopartículas de ZnO se concluyó satisfactoriamente, logrando así obtener un maquillaje con protección solar, obteniendo el cuidado deseado para la piel.

AGRADECIMIENTOS

- Dra. Maria Teresa Fuentes Romero
- Dr. Ricardo Cuenca
- Ing. Adolfo Diaz
- Q.F.B Jorge R. Romero Retana



BIBLIOGRAFÍA

1. Anónimo. (2015). nanotecnología y cosmetica. 15/04/2018, de Nanopinión Sitio web: <https://descubrenanotecnologia.wordpress.com/2013/04/22/la-nanotecnologia-y-los-cosmeticos/>
2. Anónimo. (2013). La nanotecnología y los cosmeticos. 18/04/2018, de Blog de WordPress Sitio web: <https://descubrenanotecnologia.wordpress.com/2013/04/22/la-nanotecnologia-y-los-cosmeticos/>
3. Martínez Pérez Mauricio. (2015). Crema con nanopartículas para protector solar. 22/04/2018, de Scribd Sitio web: https://es.scribd.com/document/349461443/CREMA-CON-NANOPARTICULAS-DE-OXIDO-DE-ZINC-COMO-PROTECTOR-SOLAR?doc_id=349461443&download=true&order=438173406#
4. Formoso Permuy Antonio. (2004). 2000 procedimientos industriales al alcance de todos. Mexico: LIMUSA.

CRECIMIENTO DEL PEZ ÁNGEL (*PTEROPHYLLUM SCALARE*)

*Araceli Cortes García, Danae Roció Álvarez García, Jesús Dámaso Bustamante González y Mariela González Rentería

Laboratorio de Reproducción, Genética y Sanidad Acuícola. Depto. El Hombre y su Ambiente. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Calzada del Hueso N° 1100, Col. Villa Quietud, Coyoacán, 04906, CDMX. e-mail: *acortes@correo.xoc.uam.mx

INTRODUCCIÓN

En México, la industria de peces ornamentales es una alternativa de producción rentable con perspectivas de crecimiento social y económico, en la cual se cultivan más de 160 especies con sus respectivas variedades en 23 entidades de México. Entre las especies de mayor producción y demanda están el guppy (*Poecilia reticulata*), carpa dorada (*Carassius auratus*), pez ángel (*Pterophyllum scalare*), platy (*Xiphophorus*), cebra (*Danio rerio*), tetra (*Hemiframmus caudovittatus*), betta (*Betta splendens*) y gurami (*Trichogaster* sp) (SAGARPA, 2015), de ahí la importancia de buscar alternativas que ayuden a incrementar la talla para su comercialización.

Dentro de las especies el pez ángel, es una de las más codiciadas y populares en el mercado del acuarismo, debido a su finura, belleza, colores, variedades y diversas formas de las aletas, que pueden ser cortas, dorsal delta, velo y velo bifurcado (Landines *et al.*, 2007), haciéndolo uno los peces más atractivos y apreciados por el público.

Por lo anterior, el presente estudio tiene como objetivo evaluar el efecto del producto PROBION-forte[®] en el crecimiento de *Pterophyllum scalare* con el fin de optimizar su comercialización.

Palabras clave: Longitud total, altura, peso, probiótico.

DESARROLLO EXPERIMENTAL

Se obtuvieron 120 peces procedentes de una granja del Estado de México de 50 días de nacidos con longitud promedio de 18.71 ± 4.69 , altura 8.85 ± 1.74 mm y peso de 0.14 ± 0.08 g, mantenidos en tres acuarios de 40 L (n=40 por dieta), provistos de filtro biológico, temperatura 25°C, pH 7.5, oxígeno disuelto entre 3-5 mg L⁻¹, fotoperiodo de 12L/12O, alimentadas tres veces al día equivalente al 3% del total de la biomasa de cada acuario por 75 días con tres dietas: D1): alimento comercial para trucha Silver Cup El Pedregal[®]; D2): alimento comercial suplementado con probiótico PROBION-forte[®] al 1% y D3): alimento comercial suplementado con probiótico al 2.5% ajustadas de acuerdo a las mediciones realizadas.

Cada 15 días se determinó la longitud total y altura (mm) con vernier digital marca: SURTEK[®] (± 0.001 mm) y el peso (g) con una balanza digital marca: Sartorius talent[®] (± 0.1 g).

Los resultados fueron procesados mediante análisis descriptivos expresados como medias \pm desviación estándar. Para determinar diferencias significativas entre la longitud total, altura y peso con respecto a las dos dietas se empleó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) seguido de una prueba de Tukey ($P < 0.05$).

RESULTADOS

La mayor longitud, altura y peso se presentaron con la D3 36.85 ± 14.69 , 17.91 ± 8.44 mm y 1.16 ± 1.17 g, respectivamente.

Se detectaron diferencias en la longitud y altura de la D3 con respecto a la D2 ($P < 0.05$) y el peso de la D3 con respecto a la D1 y D2 ($P < 0.05$) (Figura 1).

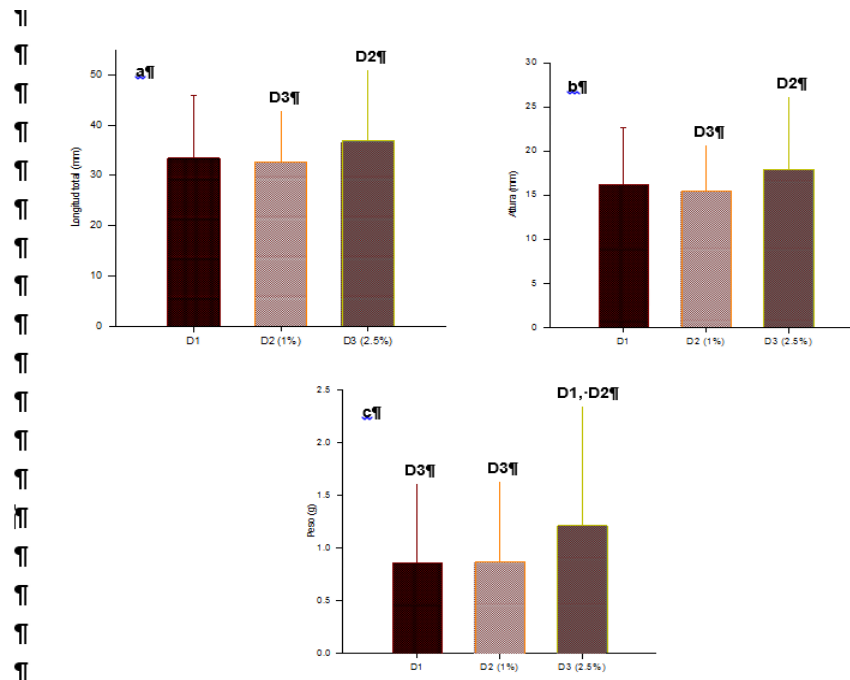


Figura 1. Crecimiento de *P. scalare* **a)** longitud total, **b)** altura (mm) y **c)** peso (g) con diferentes concentraciones de probiótico. Superíndices indican la dieta donde se detectaron diferencias ($P < 0.05$).

DISCUSIÓN

Los probióticos se definen como un factor de origen microbiológico estimulante del crecimiento (Sperti, 1971), así mismo son considerados como una herramienta viable para reducir o eliminar la incidencia de microorganismos patógenos.

En las especies acuáticas, la microbiota gastrointestinal depende del ambiente externo debido al flujo de agua que pasa a través del tracto intestinal, gran parte de las bacterias son transitorias debido a la ingesta constante de agua y alimentos (Burr *et al.*, 2005).

El interés primordial del uso de probióticos en organismos acuáticos es promover el crecimiento y salud de las especies cultivadas principalmente aquellas de importancia alimenticia, careciendo de información referente al uso en peces de ornato.

Los resultados de la presente investigación mostraron similitud al de autores como Saldaña (2011); Lara-Flores *et al.*, (2003) y Günther y Jiménez (2004) quienes evaluaron el efecto de diferentes concentraciones de probióticos en tilapia *Oreochromis niloticus* resultados que demuestran que el crecimiento de los peces se ve favorecido por la adición de las variaciones del porcentaje del probiótico en el alimento comercial.

CONCLUSIÓN

El 2.5% del probiótico adicionado en el alimento comercial favoreció el crecimiento en *P. scalare*.

REFERENCIA

1. Landines PMA., Sanabria, OAI. Y Daza, PV. 2007. Producción de peces ornamentales en Colombia. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural INCODER. Universidad Nacional de Colombia Bogotá. 240 pp.
2. SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2015. Aumenta la demanda de peces ornamentales: CONAPESCA. Consultado el 19 de noviembre de 2017: <http://www.sagarpa.gob.mx/saladeprensa//2012/Paginas/2015B162.aspx>

3. Burr, G., Gatlin, D. and Ricke, S. 2005. Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of prebiotics and probiotics in Finnish aquaculture,” *Journal of the World Aquaculture Society*. 36(4): 425–435.
4. Günther, J. y Jiménez, M.R. 2004. Efecto del probiótico *Bacillus subtilis* sobre el crecimiento y alimentación de tilapia (*Oreochromis niloticus*) y langostino (*Macrobrachium rosenbergii*) en laboratorio. *Revista de Biología tropical*. 52(4): 937-943.
5. Lara-Flores, M., Olvera-Novoa, M., Guzmán-Méndez, B. y López-Madrid, W. 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*. 216, 193–201.
6. Saldaña, G.B. 2011. Efecto de dietas con diferentes concentraciones de *Lactobacillus* sp. enriquecido con proteína hidrolizada de vísceras de *Argopecten purpuratus*, sobre el crecimiento y supervivencia de alevines de *Oreochromis niloticus* en laboratorio. Universidad Nacional de Trujillo Escuela de Postgrado, Peru.
7. Sperti, C.S. 1971. Probiotics. Avi Publishing Co, West Point, Connecticut 68-83 pp.

HONGOS COMESTIBLES ECTOMICORRÍZICOS SILVESTRES ASOCIADOS A BOSQUES DE *ABIES*, *PINUS* Y *QUERCUS* EN “PIEDRA CANTEADA”, TLAXCALA

Cristina Milagros Vázquez Arriaga¹, Oralia Fuentes García², Magdalena Martínez Reyes², Jesús Pérez Moreno², Faustino Hernández Santiago²

¹Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara, Ramón Padilla Sánchez 2100, Nextipác, 44600 Zapopan, Jalisco, ²Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Microbiología, Edafología. Km 36.5 Carretera México-Texcoco. 56230, Montecillo, Texcoco, Estado de México. *email: mymoonmc@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

Los hongos son el grupo de organismos más numeroso en la Tierra después de los insectos, la diversidad de estos organismos favorece que se desarrollen en una gran variedad de hábitats. México es uno de los países con mayor diversidad de hongos silvestres a nivel mundial el segundo después de China. Su consumo es ancestral, son un recurso forestal no maderable de enorme importancia cultural, económica, social y además juegan un papel muy importante para la existencia de los bosques por estar involucrados en el reciclaje nutrimental, estructura del suelo y en las asociaciones simbióticas con especies forestales. Son alrededor de 2400 especies de Ascomycetos y 2200 de Basidiomicetos (Garibay-Orijel et al., 2006) y aproximadamente 450 especies de hongos silvestres son consumidas por personas en comunidades aledañas al bosque.

El bosque de la comunidad de “Piedra Canteada”, localizado en el municipio de Nanacamilpa al oeste del estado de Tlaxcala, constituye una importante reserva de biodiversidad, aprovechamiento forestal, servicios ambientales y actividades turísticas enfocadas al avistamiento de luciérnagas así como acciones enfocadas a la conservación de la diversidad biológica de los hongos silvestres comestibles, distribuidos en una gran variación de condiciones edáficas y de vegetación.

Sin embargo, la micobiota de este sitio ha sido escasamente estudiada, por lo que el objetivo del presente trabajo fue registrar información relacionada con la diversidad, ecología, conocimiento tradicional y aprovechamiento de los hongos silvestres comestibles de dicha comunidad.

MÉTODOS

La Sociedad de Solidaridad Social “Piedra Canteada” cuenta con una superficie forestal de 343.7 hectáreas, en la comunidad de San Felipe Hidalgo, municipio de Nanacamilpa de Mariano Arista, Tlaxcala, dentro del Área Natural Protegida denominada “Bicentenario”. El bosque es aprovechado de forma sustentable bajo el sistema del Método Mexicano de Ordenación de Bosques Irregulares (MMOBI) y es un centro ecoturístico de avistamiento de luciérnagas. Cumple con los requerimientos establecidos por la legislación y normatividad vigente en materia de impacto ambiental, que permiten el aprovechamiento forestal con determinadas restricciones en Áreas Naturales Protegidas en la categoría de Áreas destinadas voluntariamente a la conservación.

Se establecieron 18 parcelas de muestreo permanente de 10x 10m en rodales aprovechados silvícolamente autorizados en el predio forestal de Piedra Canteada para la evaluación de la diversidad fúngica, mismas que fueron georreferenciadas. Se realizaron muestreos cada semana de julio a octubre del 2017 en compañía de recolectoras locales (hongueras) en bosques de Pino-encino y abies. Los hongos encontrados fueron colectados manualmente limpiados, fotografiados (con una cámara digital Full HD 1080 SONY Corporation, Japón), etiquetados y secados para su posterior identificación; métodos descritos por (Largent *et al.* 1977) y (Mueller 1992). Así mismo se registro el nombre con el cual son conocidos tradicionalmente.

Se realizaron esporadas o cortes histológicos según fuera necesario. Se observaron estructuras con un microscopio Olympus BX51 modelo U-LH100H.

RESULTADOS

Se encontraron 50 especies distintas de hongos silvestres, de las cuales, solo 24 son consumidas por la comunidad, perteneciendo principalmente a los géneros *Amanita*, *Laccaria*, *Ramaria* y *Russula*. Adicionalmente se reportan especies no consumidas en el área de estudio, pero con potencial de consumo y desarrollo biotecnológico o medicinal. Por ejemplo, se registró a *Hygrophorus russula* y *Hericium erinaceus* utilizados para el tratamiento potencial de VIH y la

demencia senil. Además, *H. russula* es una especie reportada para esta comunidad con valores altos de producción (Velasco *et al.*, 2010)

Existió una mayor diversidad de especies en los rodales de *Abies* que en los de *Pinus-Quercus*, similar a lo reportado para bosques maduros en Canadá (Durall *et al.*, 2005). Los hongos registrados para el área pertenecieron a los géneros de *Amanita*, *Boletus*, *Lactarius*, *Hebeloma*, *Ramaria*, *Russula*, *Turbinellus* y *Laccaria*.

CONCLUSIONES

Se concluye que la comunidad de “Piedra Canteada” tiene un enorme potencial de utilización del recurso micológico y de desarrollo para el micoturismo, aunado al que ya posee por el avistamiento de luciérnagas, el cual recibe turismo nacional e internacional.

Se agradece el apoyo del proyecto CONACyT 246674.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Durall D.M, S. Gamiet, S.W. Simard, L. Kudrna, S.M. Sakakibara. 2006. Effects of clearcut logging and tree species composition on the diversity and Community composition of epigeous fruit bodies formed by ectomycorrhizal fungi. *Can. J. Bot.* 84:966-980.
2. Garibay-Orijel, R., J. Cifuentes, A. Estrada-Torres, J. Caballero. 2006. People using macro-fungal diversity in Oaxaca, Mexico. *Fungal Diversity* 21:41-67.
3. Largent DL, Johnson D, Stuntz DE, Watling R. 1977. How to identify mushrooms to genus III: Microscopic features. Eureka, California, USA: Mad River Press.
4. Mueller GM. 1992. Systematics of *Laccaria* (Agaricales) in the continental United States and Canada, with discussions on extralimital taxa and descriptions of extant types. *Fieldiana Botany* 30: 1-158.
5. Velasco Bautista E., M. C. Zamora-Martínez, C. Nieto de Pascual P., J. I. Martínez-Valdez, A. Montoya. 2010. Modelos predictivos de la producción de hongos silvestres comestibles en bosques de coníferas, Tlaxcala, México. *Rev. Mex. Cien. For.* 1: 95-104.

ANÁLISIS ESTRUCTURAL Y FILOGENÉTICO DEL REGULADOR TRANSCRIPCIONAL DE LA RUTA DE DEGRADACIÓN DE TERPENOS ACÍCLICOS ATUR DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

César Díaz Pérez¹, Blanca Estela Gómez Luna¹, Juan Carlos Ramírez Granados¹, Rafael Alejandro Veloz García¹ y Patricia Castro Moreno²

¹Campus Celaya-Salvatierra-Universidad de Guanajuato, ²FES-Iztacala.

RESUMEN

El género *Pseudomonas* es uno de los más diversos de las bacterias, abarcando especies que han sido aisladas de casi todos los ecosistemas de la tierra, por lo que no es de extrañar que tengan un metabolismo complejo. Los terpenos acíclicos son un grupo de hidrocarburos recalcitrantes, que solo son degradados por unas pocas especies bacterianas, entre ellas *Pseudomonas aeruginosa*, mediante la ruta metabólica de degradación de terpenos acíclicos (ATU) codificada por los genes *atuR-atuABCDEFGH*. Esta ruta cuenta con el regulador negativo *AtuR* (PA2885), que pertenece a la familia TetR. En este trabajo se estudió la evolución de la familia proteica y se modeló la proteína *AtuR* para conocer mejor su papel en la regulación de la ruta ATU. Se encontró que las 344 proteínas similares a *AtuR* solo se encuentran en el dominio bacteria. Un análisis de dominios mostro que la familia contiene a los dominios *AcrR* (COG1309) y *tetR* (pfam00440), sugiriendo que este grupo de proteínas pertenece a la superfamilia *tetR*, aunque su similitud con las proteínas mejor caracterizadas de esta superfamilia es baja, indicando una divergencia muy antigua de esta familia. Se generó un modelo por homología del dímero de *AtuR* de *P. aeruginosa* con el programa Modeller. *AtuR* contiene el dominio de unión a DNA hélice-giro-hélice en la región amino-terminal, y un motivo similar a *pfIT* en el carboxilo-terminal. Además, se localizó un posible sitio de unión a una molécula regulatoria. La evidencia obtenida nos indica que la familia *AtuR* no está diversificada en eucariotes, por lo que puede ser un buen blanco terapéutico contra esta especie bacteriana, además se localizó el posible sitio de unión a la molécula regulatoria de este represor.

INTRODUCCIÓN

La contaminación ambiental es uno de los grandes problemas a los que se enfrenta el hombre hoy en día. En las últimas décadas se han liberado al medio ambiente una gran cantidad de compuestos químicos, debido al aumento de la población, el uso desmedido de fertilizantes y plaguicidas agrícolas, la expansión de la industria alimenticia y de manufactura (1). Los hidrocarburos son uno de los contaminantes ambientales de mayor importancia en el mundo. Se estima que anualmente son arrojados hasta 8.4 millones de toneladas anualmente al ambiente, lo cual conlleva un gran daño al medio ambiente (2).

La familia de los hidrocarburos 3-metil ramificados, presentan una ramificación sobre el carbono 3 ó carbono β de la cadena principal, bloqueando la oxidación β , por lo que muestran persistencia en el ambiente, es decir, son recalcitrantes (3-5). Los isoprenoides acíclicos de la familia del citronelol (MAFC) como el citronelol, geraniol, nerol citronelal, citral, ácido citronélico y ácido geránico pertenecen a este tipo de compuestos (6), de los cuales el citronelol es el modelo de estudio para estudiar la biodegradación por microorganismos (5, 7).

Hoy en día solo se conocen algunas especies del género *Pseudomonas* que son capaces de metabolizar al citronelol, mediante una ruta degradativa que fue propuesta en *Pseudomonas citronellolis*, en la década de 1970 (8). La ruta de degradación de los MAFC comprende 4 etapas: (I) la ruta superior de activación-oxidación, (II) ruta central de terpenos acíclicos (ATU, *atuR-atuABCDEFGH*), (III) acoplamiento con oxidación β , (IV) convergencia con la ruta de degradación de leucina/isovalerato (LIU,) (9). La ruta catabólica central ATU, y LIU son interesantes ya que ambas rutas llevan a cabo un grupo de reacciones análogas, más aun, se ha visto que las proteínas involucradas son homólogas entre sí, lo que nos sugiere que ambas rutas provienen de un origen común (10-12).

La vía ATU presenta una gen codificante para una proteína reguladora, *AtuR*, la cual pertenece a la familia de proteínas TetR (13). Se ha observado que *AtuR* codifica para un represor de la expresión de los productos de la vía ATU, además se ha observado que *AtuR* funcionalmente es un homodímero, el cual se une de manera específica a la región intergénica *atuR-atuA*, la cual contiene

dos inversos repetidos perfectos, separados por seis pares de bases, está secuencia de DNA es necesaria para la unión del dímero de la proteína (14).

Si bien se ha mencionado que las rutas ATU y LIU presentan proteínas homólogas, la similitud de los reguladores de ambas vías es baja (27% de identidad), por lo que es factible pensar que pertenecen a familias proteicas diferentes, además si bien el papel de la proteína AtuR se ha descrito, no se ha profundizado el conocimiento sobre los posible mecanismos moleculares de su función, por lo tanto, en este trabajo nos proponemos investigar sobre las relaciones evolutivas y los mecanismos moleculares del represor AtuR.

PARTE EXPERIMENTAL

Filogenia molecular de la proteína AtuR de P. aeruginosa

Se utilizó una metodología similar a la reportada por Díaz-Pérez y col. (15). Se hizo una búsqueda de proteínas similares mediante el programa Blastp (16), usando la secuencia de la proteína AtuR (número de acceso: NP_251575). Se utilizó la base de datos nr (proteínas no redundantes del GeneBank), no se usó filtro de baja complejidad, y se eliminaron las secuencias con un número E menor a 1×10^{-5} ; los parámetros de penalización de huecos (gaps) y la matriz usada fueron los de uso por omisión. Se efectuaron cinco pasos de depuración para eliminar todas las proteínas redundantes y fragmentos, para obtener el grupo de trabajo final de 400 secuencias.

Para realizar el alineamiento del grupo final y de los subgrupos se utilizó el programa T-coffe (17), se agregaron tres proteínas de arqueas y eucariotes para enraizar el árbol. El alineamiento obtenido se editó a mano usando como editor de secuencias el programa BioEdit (18).

Para la construcción del árbol filogenético se utilizó el programa MEGA6 (19). Se siguieron tres algoritmos distintos; de los métodos basados en matriz de peso (MMP) se usaron Vecino Más Cercano (NJ-Neighbor-Joining) y Mínima Evolución (ME); y de los métodos basados en características (MBC) se usó Máxima Parsimonia (MP).

En la construcción de los árboles, se utilizó la delección pareada, y como modelos evolutivos, la corrección de Poisson y la matriz JTT. Como prueba estadística se efectuó un análisis de Bootstrap de 1000 repeticiones para cada árbol. Se verificó la taxonomía del organismo de donde provenía cada secuencia para analizar los datos filogenéticos.

Modelado de la proteína AtuR de P. aeruginosa

Para generar el modelo de la proteína AtuR, primeramente se buscó la proteína más parecida a esta en la base de datos PDB usando el programa Blastp (16), encontrándose a las proteínas antigénica Pfit de *P. fluorescens* (no. de acceso: 4MXM, 4MO7). Se modeló la proteína AtuR de *P. aeruginosa* usando con el programa Modeller 9v6 (20), generando 100 modelos.

Los modelos fueron validados en el programa PROCHECK 3.5 (21). Se seleccionó el modelo con los mejores valores de validación.

Las figuras fueron generadas con el programa PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.2r1, Schrödinger, LLC.

RESULTADOS

Filogenia molecular de la proteína AtuR de P. aeruginosa

La ruta de degradación MAFC contiene dos reguladores, LiuR y AtuR, los cuales se creó que son proteínas homólogas. Para verificar esta hipótesis y profundizar el conocimiento de las relaciones evolutivas de la familia TetR, efectuamos la reconstrucción filogenética de la familia proteica AtuR.

Encontramos que la familia consta de 400 miembros de proteínas. Se llevó a cabo un análisis de dominios de todos los miembros, el cual mostro que la familia contiene a los dominios: AcrR (COG1309) y tetR (pfam00440), sugiriendo que este grupo de proteínas pertenece a la superfamilia tetR, aunque su similitud con las proteínas mejor caracterizadas de esta superfamilia es baja, indicando una divergencia muy antigua de esta familia. También se encontró que todos los miembros de la familia, salvo la proteína KNA03461 de espinaca (*Spinacia oleracea*) pertenecen al dominio *Bacteria*. Esto nos sugiere que hay un evento de transferencia horizontal de genes y que esta familia de proteínas surgió posteriormente a la diversificación de los tres dominios y posiblemente después de los eventos de endosimbiosis que dieron origen al clado *Eukarya*.

Se procedió a reconstruir la filogenia de la familia (Figura 1). Se observó que las proteínas se distribuyeron en siete grupos, los cuales se nombraron de acuerdo a los tipos de proteínas TetR de cada grupo, este tipo de distribución ya se ha observado anteriormente (22-24), y confirma que TetR es una superfamilia de proteínas, donde han surgido proteínas que se han especializado en funciones específicas. Para enraizar el árbol se agregaron tres proteínas de arqueas, plantas y metazoos, estas proteínas se distribuyeron en diferentes grupos, lo que confirma que esos grupos se originaron antes de la divergencia de los dominios taxonómicos (Figura 1, asteriscos rojos).

Dentro de la familia más cercana a AtuR (nombrada AtuR-like) se localizaron ocho proteínas que tienen dos dominios AcrR (Figura 1, flecha negra), indicando un evento de duplicación en la evolución de esta familia.

La proteína AtuR de *P. aeruginosa* se agrupa con otras 50 proteínas (Figura 1, flecha roja). Este grupo está claramente separado de los demás grupos, además esta rama de la superfamilia se confirma por un valor de bootstrap de 82%, lo que indica que es un grupo real, por lo que proponemos a la familia de proteína AtuR. El grupo de las proteínas AtuR se encuentra cercano a las proteínas KstR, donde se han cristalizado algunos de sus miembros, lo que nos permitirá hacer un modelamiento de la estructura tridimensional de AtuR.

Interesantemente, la proteína única no bacteriana encontrada en la búsqueda de homólogos (número de acceso KNA03461), pertenece a la planta de espinaca (Figura 1, asterisco verde) se agrupa estrechamente con las proteínas AtuR. Este subgrupo está formado proteínas de bacterias que colonizan o infectan la raíz de plantas, por lo que posible que la proteína KNA03461 de espinaca haya surgido de un fenómeno de transferencia horizontal de genes.

Interesantemente no se encontró a la proteína LiuR en esta familia, por lo que se puede concluir que AtuR y LiuR no son proteínas homólogas, a diferencia de las demás proteínas de estas las rutas ATU y LIU.

Modelado de la proteína AtuR de P. aeruginosa

AtuR es una proteína de 352 aminoácidos que es parte de la familia de reguladores transcripcionales TetR, algunos de los cuales se conoce su estructura tridimensional, por lo que se pueden usar estos para generar un modelo molecular de AtuR y predecir la estructura de esté.

Se encontró que la proteína cristalizada más parecida a AtuR es la de proteína Pfit de *Pseudomonas fluorescens* (Tabla 1), con un 78% de identidad, por lo que es un excelente molde para generar un modelo valido. Se generaron 100 modelos, de los cuales siete pasaron las pruebas con PROCHECK, esto no es de extrañar debido al gran parecido entre AtuR y Pfit. Se seleccionó el modelo con mejores valores de validación para los análisis estructurales (Tabla 1), el cual presenta 349 residuos (tomando en cuenta al dímero) dentro de las zonas sin restricciones físicamente validas (99.1%) y solo 3 (0.9%) residuos en las zonas son restricciones permitidas, y cabe resaltar ninguno de los ángulos de los residuos del modelo caen en zonas generales o no permitidas, lo que nos indica que es un modelo de gran calidad, que puede ser usado para análisis estructural.

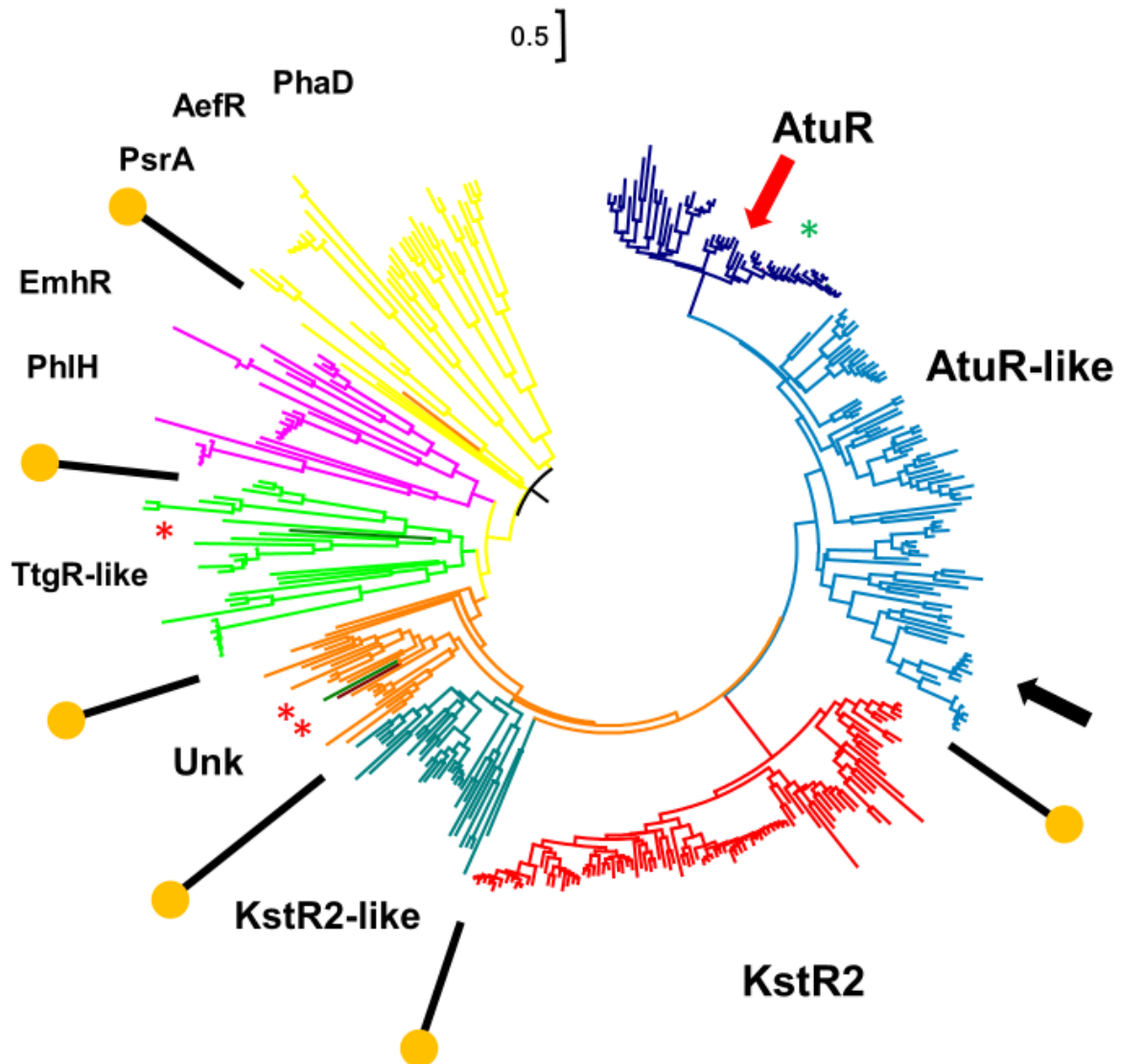


Figura 1. Filogenia molecular de AtuR de *P. aeruginosa*. Árbol filogenético de máxima verosimilitud construido con las 400 proteínas homólogas de AtuR. Se muestran las siete familias de la superfamilia. Se marcan con asteriscos rojos las proteínas usadas para enraizar el árbol. Con flecha roja se señala la proteína AtuR de *P. aeruginosa*. Con asterisco verde se marca el posible evento de transferencia horizontal de genes de la proteína KNA03461 de espinaca. Con flecha negra se señalan a las ocho proteínas que tienen un dominio duplicado AcrR.

Tabla 1.- Datos de la calidad del modelo de la proteína AtuR de *P. aeruginosa* y comparación con la proteína templado Pfit de *P. fluorescens*.

Modelo	Templado	Identidad (%)	RMSD (Å)	Ángulos de los enlaces peptídicos por zonas (%)			
				Core	Allowed	General	Disallowed
AtuR	4MXM	78%	0.34	99.1	0.9	0.0	0.0

A pesar de la gran divergencia de secuencia observada en las proteínas TerR, los datos estructurales revelan que todos los miembros de la familia comparten características estructurales comunes tanto en los dominios de unión al DNA. Las proteínas son casi exclusivamente helicoidales, con nueve hélices conservadas, y funcionan como dímeros, además todos los reguladores de la familia TetR consisten en un dominio de unión a ADN, del tipo hélice-giro-hélice, formado por las tres primeras hélices conservadas, en el extremo N-terminal y un dominio C-terminal más grande que se postula está relacionado con la unión de compuestos reguladores (Figura 2) (25).

Se observó que los residuos de interacción con el DNA de la familia TetR se encuentran conservados en AtuR, dichos residuos son K59, F53, T37 y T35. También se encontró que otros residuos de unión a DNA, V38 y S49, identificados en regulador de la ruta del colesterol KstR2 de *Mycobacterium tuberculosis* (26) y en el regulador transcripcional HrtR de *Lactococcus lactis* (27) se encuentran conservados en AtuR (Figura 3A).

El dominio C-terminal, es donde se une el ligando que hace que se active las proteínas de esta familia y se una al DNA. Los reguladores TetR pueden unir a una gran variedad de posibles ligandos, para llevar a cabo su función. AtuR interviene en una ruta metabólica donde los compuestos de la misma son activados con coenzima-A (CoA), y es factible que uno de estos compuestos sea el metabolito regulador de esta proteína. Para localizar la zona de unión a ligando en el represor AtuR se efectuó un alineamiento tridimensional con el regulador de *cetosteroides* KstR2 de *M. tuberculosis*, el cual usa al HIP-CoA como molécula reguladora. Se localizó una cavidad entre las hélices 8 y 9, rodeada por alrededor de 25 residuos, donde la CoA se introduce en el AtuR, lo que permitiría que una cadena alifática, como la de los compuestos de la ruta ATU, pudiera acomodarse sin problemas fuera de esta cavidad (Figura 3B). Trabajos futuros de anclaje molecular, geles de retardamiento EMSA y mutaciones dirigidas a los residuos de esta cavidad serían necesarios para validar este descubrimiento.

CONCLUSIONES

La familia de proteínas AtuR está formado por 50 miembros, presenta un posible fenómeno de transferencia horizontal de genes. Esta familia no se encuentra en otros eucariotes ni en arqueas, por lo que es una proteína con función específica de bacterias. Debido a la ausencia de la proteína LiuR en la subfamilia AtuR y en toda la superfamilia TetR, indica sin lugar a dudas que no son proteínas homólogas, y es muy probable que estos reguladores hayan sido reclutados en un evento posterior al fenómeno de duplicación que dio origen a estas rutas metabólicas.

El represor AtuR mostró la estructura de la familia TetR clásica, compuesta por un enlace de ADN y un ligando de dominios de unión. Se identificaron los residuos de unión a ADN conservados (K59, F53, T37, T35, V38 y S49). AtuR, AtuR-like y KstR2 forman una familia que pertenece a la superfamilia TetR.

P. aeruginosa es una bacteria oportunista multi-resistente a antibióticos responsable de infecciones respiratorias en paciente de fibrosis quística y de infecciones postoperatorias (28, 29). Con la publicación de su genoma (30), se han buscado genes que sea factible usarlos como blancos terapéuticos. AtuR es una proteína que no tiene homólogos en humanos, que además tiene un sitio de unión a un compuesto regulador, por lo que es factible que pueda ser usada como un posible blanco de medicamentos que sean diseñados para este fin.

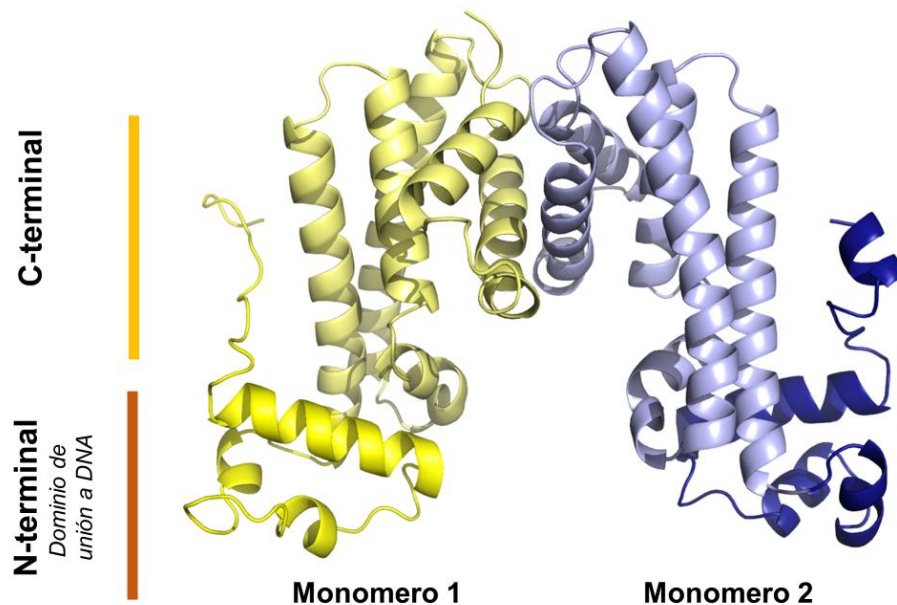


Figura 2. Modelo molecular del represor AtuR de *P. aeruginosa*. La proteína PfiT de *Pseudomonas fluorescens* se usó como templado.

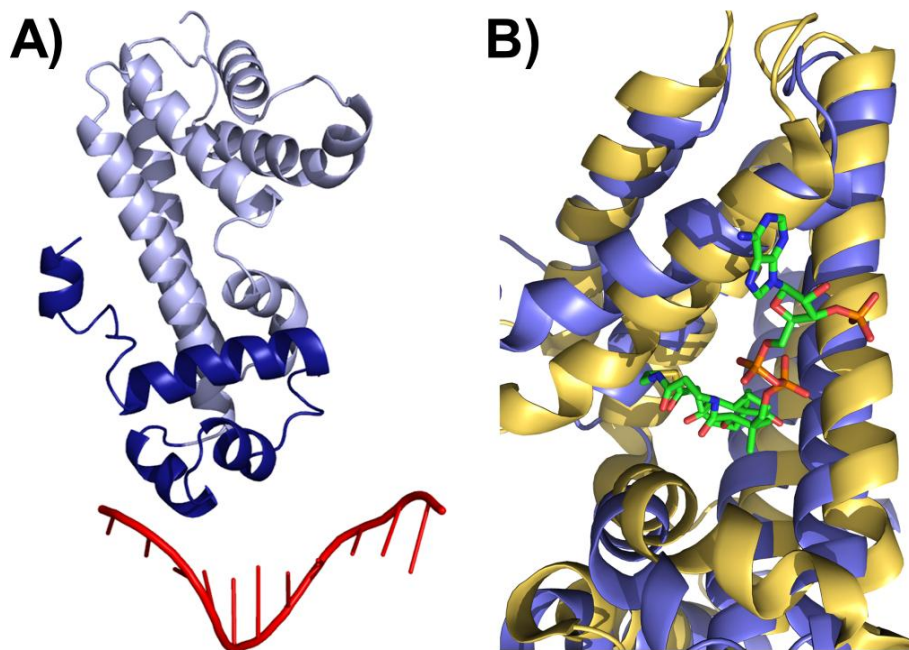


Figura 3. Dominios funcionales del represor AtuR de *P. aeruginosa*. A) dominio de unión a ADN de AtuR de *P. aeruginosa*. El DNA se obtuvo por superposición de la estructura de AtuR y el regulador transcripcional HrtR de *L. lactis* (PDB: 3VOK). B) Dominio de unión a ligando de AtuR de *P. aeruginosa*. La superposición de KstR2 de *M. tuberculosis* (Amarillo, PDB: 4W97) y AtuR (Azul) se usó para localizar el dominio de unión a ligando de AtuR. Se identificó un motivo distintivo de 9 aa en este dominio.

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto se llevó a cabo gracias al financiamiento DAIP-Universidad de Guanajuato, proyectos 979/2016 y 169/2016.

BIBLIOGRAFÍA

1. Díaz-Pérez, A.L., Identificación de los genes de *Pseudomonas aeruginosa* involucrados en la biodegradación del isoprenoide citronelol, in IIQB. 2003, UMSNH: Morelia. p. 98.
2. NCR, *Oil in the Sea III: Inputs, Fates, and Effects*. 2003, Washington, DC. USA: The National Academies Press. 265.
3. Alexander, M., "Nonbiodegradable and other recalcitrant molecules", *Biotechnol. Bioeng.*, Vol. 15, 4, 1973, pp. 611 - 647.
4. Pirnik, M.P., R.M. Atlas, y R. Bartha, "Hydrocarbon metabolism by *Brevibacterium erythrogenes*: normal and branched alkanes", *J Bacteriol.* Vol. 119, 3, 1974, pp. 868-78.
5. Schaeffer, T.L., S.G. Cantwell, J.L. Brown, D.S. Watt, y R.R. Fall, "Microbial growth on hydrocarbons: terminal branching inhibits biodegradation", *Appl Environ Microbiol.* Vol. 38, 4, 1979, pp. 742-6.
6. Díaz-Pérez, A.L., A.N. Zavala-Hernández, C. Cervantes, y J. Campos-García, "The gnyRDBHAL cluster is involved in acyclic isoprenoid degradation in *Pseudomonas aeruginosa*", *Appl Environ Microbiol.* Vol. 70, 9, 2004, pp. 5102-10.
7. Fall, R.R., J.L. Brown, y T.L. Schaeffer, "Enzyme recruitment allows the biodegradation of recalcitrant branched hydrocarbons by *Pseudomonas citronellolis*", *Appl Environ Microbiol.* Vol. 38, 4, 1979, pp. 715-22.
8. Cantwell, S.G., E.P. Lau, D.S. Watt, y R.R. Fall, "Biodegradation of acyclic isoprenoids by *Pseudomonas* species", *J Bacteriol.* Vol. 135, 2, 1978, pp. 324-33.
9. Campos-García, J., *Metabolism of Acyclic Terpenes by Pseudomonas*, in *Pseudomonas*, J.L. Ramos and A. Filloux, Editors. 2010, Springer Netherlands. p. 235-253.
10. Hoschle, B., V. Gnau, y D. Jendrossek, "Methylcrotonyl-CoA and geranyl-CoA carboxylases are involved in leucine/isovalerate utilization (Liu) and acyclic terpene utilization (Atu), and are encoded by liuB/liuD and atuC/atuF, in *Pseudomonas aeruginosa*", *Microbiology.* Vol. 151, Pt 11, 2005, pp. 3649-56.
11. Chavez-Aviles, M., A.L. Diaz-Perez, y J. Campos-Garcia, "The bifunctional role of LiuE from *Pseudomonas aeruginosa*, displays additionally HIHG-CoA lyase enzymatic activity", *Mol Biol Rep.* Vol. 37, 4, 2010, pp. 1787-91.
12. Aguilar, J.A., A.N. Zavala, C. Díaz-Pérez, C. Cervantes, A.L. Díaz-Pérez, y J. Campos-García, "The *atu* and *liu* clusters are involved in the catabolic pathways for acyclic monoterpenes and leucine in *Pseudomonas aeruginosa*", *Applied and Environmental Microbiology.* Vol. 72, 3, 2006, pp. 2070-9.
13. Förster-Fromme, K. y D. Jendrossek, "Catabolism of citronellol and related acyclic terpenoids in pseudomonads", *Applied microbiology and biotechnology.* Vol. 87, 3, 2010, pp. 859-869.
14. Förster-Fromme, K. y D. Jendrossek, "AtuR is a repressor of acyclic terpene utilization (Atu) gene cluster expression and specifically binds to two 13 bp inverted repeat sequences of the atuA-atuR intergenic region", *FEMS microbiology letters.* Vol. 308, 2, 2010, pp. 166-174.
15. Díaz-Pérez, C., C. Cervantes, J. Campos-García, A. Julian-Sánchez, y H. Riveros-Rosas, "Phylogenetic analysis of the chromate ion transporter (CHR) superfamily", *FEBS J.* Vol. 274, 23, 2007, pp. 6215-27.
16. Altschul, S.F., T.L. Madden, A.A. Schaffer, J. Zhang, Z. Zhang, W. Miller, y D.J. Lipman, "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs", *Nucleic Acids Res.* Vol. 25, 17, 1997, pp. 3389-402.
17. Notredame, C., D.G. Higgins, y J. Heringa, "T-coffee: a novel method for fast and accurate multiple sequence alignment", *Journal of Molecular Biology.* Vol. 302, 1, 2000, pp. 205-217.
18. Hall, T.A., "BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT.", *Nucleic Acids Symp Ser.* Vol. 41, 1999, pp. 95-98.

19. Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski, y S. Kumar, "MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0", *Molecular biology and evolution*. Vol. 30, 12, 2013, pp. 2725-2729.
20. Fiser, A. y A. Sali, "Modeller: generation and refinement of homology-based protein structure models", *Methods Enzymol*. Vol. 374, 2003, pp. 461-91.
21. Laskowski, R.A., M.W. MacArthur, D.S. Moss, y J.M. Thornton, "PROCHECK: a program to check the stereochemical quality of protein structures", *Journal of applied crystallography*. Vol. 26, 2, 1993, pp. 283-291.
22. Shah, S. y H. Sørum, "Genetic localization of a TetR-like transcriptional regulator gene in *Pseudomonas fluorescens* isolated from farmed fish", *Journal of applied genetics*. Vol. 55, 4, 2014, pp. 541-544.
23. Krushkal, J., S. Sontineni, C. Leang, Y. Qu, R.M. Adkins, y D.R. Lovley, "Genome diversity of the TetR family of transcriptional regulators in a metal-reducing bacterial family Geobacteraceae and other microbial species", *Omics: a journal of integrative biology*. Vol. 15, 7-8, 2011, pp. 495-506.
24. Maity, T.S., D.W. Close, Y.E. Valdez, K. Nowak-Lovato, R. Marti-Arbona, T.T. Nguyen, P.J. Unkefer, E. Hong-Geller, A.R. Bradbury, y J. Dunbar, "Discovery of DNA operators for TetR and MarR family transcription factors from *Burkholderia xenovorans*", *Microbiology*. Vol. 158, 2, 2012, pp. 571-582.
25. Liu, L., H. Chen, M.B. Brecher, Z. Li, B. Wei, B. Nandi, J. Zhang, H. Ling, G. Winslow, y J. Braun, "Pfit is a structurally novel Crohn's disease-associated superantigen", *PLoS pathogens*. Vol. 9, 12, 2013, pp. e1003837.
26. Crowe, A.M., P.J. Stogios, I. Casabon, E. Evdokimova, A. Savchenko, y L.D. Eltis, "Structural and functional characterization of a ketosteroid transcriptional regulator of *Mycobacterium tuberculosis*", *Journal of Biological Chemistry*. Vol. 290, 2, 2015, pp. 872-882.
27. Sawai, H., M. Yamanaka, H. Sugimoto, Y. Shiro, y S. Aono, "Structural basis for the transcriptional regulation of heme homeostasis in *Lactococcus lactis*", *Journal of Biological Chemistry*. Vol. 287, 36, 2012, pp. 30755-30768.
28. Ratjen, F., A. Munck, P. Kho, y G. Angyalosi, "Treatment of early *Pseudomonas aeruginosa* infection in patients with cystic fibrosis: the ELITE trial", *Thorax*. Vol. 65, 4, 2010, pp. 286-291.
29. Hirsch, E.B. y V.H. Tam, "Impact of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection on patient outcomes", *Expert review of pharmacoeconomics & outcomes research*. Vol. 10, 4, 2010, pp. 441-451.
30. Stover, C.K., X.Q. Pham, A. Erwin, S. Mizoguchi, P. Warrener, M. Hickey, F. Brinkman, W. Hufnagle, D. Kowalik, y M. Lagrou, "Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen", *Nature*. Vol. 406, 6799, 2000, pp. 959.

ESTUDIOS PRELIMINARES DE ACTIVIDAD ANTIARTRÍTICA SOBRE UN MODELO MÚRIDO DE UNA MOLÉCULA ANÁLOGA A CURCUMINA

Carolina Escobedo Martínez¹, María Isabel Carrillo López¹, William Efrén Meza-Morales², Silvia Laura Guzmán-Gutiérrez³, Juan Ramón Zapata-Morales¹, Raúl G. Enríquez²

¹Universidad de Guanajuato, ²Instituto de Química, UNAM, ³Catedrática CONACyT. Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.

RESUMEN

En el presente estudio se evaluó el efecto antiartrítico de la molécula Diacetilcurcumina (DAC), el cual es un compuesto análogo a la molécula de Curcumina derivado de la reacción de acetilación de ésta última, la cual es aislada del rizoma de *Curcuma longa* L. La evaluación de la actividad antiartrítica de DAC fue evaluada sobre un modelo múrido inducido por adyuvante completo de Freund. El compuesto se administró por vía oral a las dosis de 20, 40 y 60 mg/kg, además del fármaco referencia Fenilbutazona administrado a la dosis de 80 mg/kg.

Se observó visualmente un efecto antiinflamatorio de la DAC en la fase aguda y crónica, el análisis estadístico de los datos concluyó una actividad antiartrítica significativa en la fase crónica a la dosis administrada de 60 mg/kg, además de no observarse el desarrollo de lesiones secundarias asociadas a este modelo farmacológico.

INTRODUCCIÓN

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune idiopática, caracterizada por sinovitis simétrica en articulaciones grandes y pequeñas que pueden conducir a daño articular progresivo e incapacidad (1). La AR es una enfermedad relativamente frecuente; según datos estadísticos globales, indican que afecta al 0,3-1% de la población, lo que significa que actualmente habría en todo el planeta entre 100 y 200 millones de personas que padecen este trastorno, la relación mujer: hombre es 3:1 y la edad pico de aparición es entre 30 y 55 años, pero puede presentarse a cualquier edad. En México afecta al 1.6% de la población en general, siendo el principal motivo de consulta en el Servicio de Reumatología (2). Para tratar la AR se utilizan analgésicos y antiinflamatorios, incluyendo los esteroides, para suprimir los síntomas. Se han propuesto nuevas terapias, como las dirigidas al factor de necrosis tumoral alfa (infiximab) o a la terapia anti-CD20 (rituximab), que inhiben el proceso inmunológico subyacente. Sin embargo, todos estos fármacos tienen varios efectos no deseados. Investigaciones recientes buscan descubrir fármacos antiinflamatorios de acción prolongada con mínimos efectos secundarios (3).

Se utilizan varios modelos animales para evaluar compuestos potencialmente útiles contra la AR y la elección de un modelo particular depende de las propiedades inmunológicas que se observan en el modelo y su relación con la enfermedad humana. Entre los modelos disponibles está la artritis inducida por colágeno o adyuvante (e.g. adyuvante de Freund) en roedores, artritis espontánea inducida por TNF- α o modelos genéticos, como el modelo animal transgénico. Mientras que ningún modelo de AR puede considerarse ideal, la artritis de rata inducida por adyuvante de Freund comparte varios rasgos con la artritis humana y su sensibilidad para evaluar agentes antiartríticos fue la base para su elección como modelo para evaluar la actividad de Diacetilcurcumina (DAC) molécula análoga a Curcumina, DAC es un compuesto de fórmula química $C_{25}H_{24}O_8$ color amarillo brillante, derivado de la reacción de acetilación de Curcumina, utilizando anhídrido acético en presencia de piridina como catalizador (Figura 1).

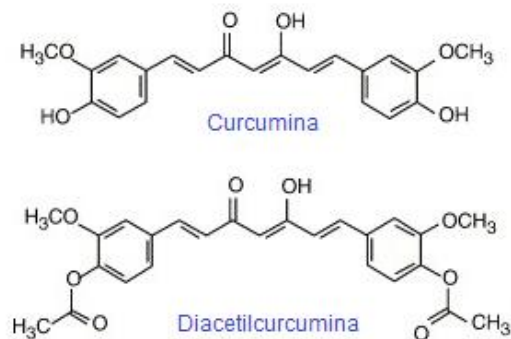


Figura 1. Estructura química de Curcumina y Diacetilcurcumina

Curcuma longa L. es un tipo de especia originaria de la India derivada de los rizomas de la planta, tiene una larga historia de uso en la medicina ayurveda como un tratamiento para las condiciones inflamatorias. *C. longa* es un miembro perenne de la familia Zingiberaceae y se cultiva en la India y otras partes del sureste de Asia (4). Es el rizoma de color anaranjado (Figura 2) el que tiene el total protagonismo de la planta en cuanto a sus usos en el mercado o la industria. La cúrcuma es y ha sido utilizada en gastronomía e industria alimentaria, en medicina, cosmética natural y ritos espirituales (5).



Figura 2. A. Imagen de la planta de la cúrcuma. B. Detalle de la flor. C. Detalle del rizoma anaranjado.

El principal componente activo de la cúrcuma y el responsable de su color amarillo vibrante es la curcumina la cual es el curcuminóide más importante de *Curcuma Longa* L., que se obtuvo por primera vez por síntesis en el laboratorio de S. Kostanecki en Berna en 1913 (6).

La molécula de Curcumina presenta en su estructura dos grupos OH reactivos, que permiten la introducción de grupos farmacóforos en su estructura y de esta forma variar o potenciar su actividad farmacológica (7); los grupos acetilo cuando se unen a ciertas moléculas orgánicas, les imparten un efecto farmacológico aumentado para cruzar la barrera hematoencefálica, haciendo que éste sea más intenso y se incremente su actividad a una dosis dada, ejemplificando lo anterior existe cierta evidencia de que la acetil-L-carnitina puede ser más efectiva para algunas aplicaciones como para transportar ácidos grasos al interior de las mitocondrias en la célula, que la L-carnitina (8).

Mientras que la curcumina ha sido atribuida a numerosas actividades farmacológicas, incluyendo las propiedades antioxidantes (9) y antimicrobianas (10), este trabajo se focalizó en los efectos antiinflamatorios y antiartríticos de su molécula análoga: Diacetilcurcumina (DAC).

El presente trabajo evaluó el efecto antiartrítico del compuesto DAC sobre un modelo mudo de artritis reumatoide inducido mediante adyuvante completo de Freund. El compuesto se administró

vía oral a las dosis de 20, 40 y 60 mg/kg; además de utilizar fenilbutazona (80 mg/kg) como fármaco de referencia.

A la fecha dentro de lo reportado en la literatura, no se encuentra algún registro de investigación sobre las propiedades antiartríticas de DAC realizadas sobre un modelo murino de artritis, sólo entre los estudios recientes se encuentra la evaluación de la actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* (11); la evaluación de actividad anti-cancerígena (12) y su actividad preventiva en daño citotóxico y neuronal de complejos con Manganeso (13).

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales y métodos:

Compuesto

El compuesto Diacetilcurcumina (DAC) fue obtenido mediante la reacción de acetilación de la molécula de Curcumina, utilizando anhídrido acético en presencia de piridina como catalizador.

Vehículo

Para administrar los compuestos tanto DAC como Fenilbutazona se utilizó como vehículo aceite de maíz (0.1 ml/100 g), y DMSO al 5 % respecto al volumen total de aceite para cada una de las dosis.

Animales

Todos los experimentos se realizaron de acuerdo con los estándares éticos para la investigación experimental del dolor en animales de la Norma Oficial Mexicana para el cuidado y manejo de animales (NOM-062-ZOO-1999). Se utilizaron ratas macho Wistar consanguíneas (250-300 g) estas fueron obtenidas del Bioterio de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Guanajuato. Los animales se alojaron en 5 grupos (n=3): Vehículo, DAC 20, DAC 40, DAC 60 y Fenilbutazona 80 mg/kg. Al término del experimento (25 días), todos los animales fueron sacrificados por sobredosis de anestésico y diseccionados para almacenar sus órganos (estómago, hígado, riñones, pulmones) en solución de formaldehído al 10%, para su análisis posterior.

Actividad anti-inflamatoria

El estado artrítico se indujo mediante la inyección intradérmica plantar (a través de una aguja calibre 20) de 0,05 ml de adyuvante completo de Freund en el pie trasero derecho Este método, descrito desde 1963 por Newbould (14), ha sido ampliamente utilizado para detectar posibles fármacos anti-inflamatorios con actividad antiartrítica. Entre los diversos tipos de adyuvantes disponibles, el más comúnmente utilizado en animales de experimentación es el adyuvante completo de Freund (CFA), que contiene micobacterias muertas, usualmente *Mycobacterium bovis* BCG a una concentración de 1 mg/ml o menos (14).

El grado de edema se evaluó por el método de desplazamiento volumétrico, utilizando un pletismómetro digital PAN LAB. El desplazamiento de volumen se registró 24 h antes además 8 y 24 h después de la inyección de CFA. Para completar la evaluación de la actividad en la inducción de artritis, las variaciones de volumen en la pata trasera se registraron diariamente hasta por 25 días después de la inyección. La fenilbutazona (fármaco de referencia, 80 mg/kg) y la muestra de Diacetilcurcumina (en una dosis de 20, 40 y 60 mg/kg) se administraron vía oral antes de la inyección de CFA y diariamente durante 14 días. Además de la observación física de cada uno de los animales ante la aparición o progresión de lesiones secundarias en animales de ensayo.

Las diferencias entre los grupos control y de tratamiento se analizaron mediante la prueba de Tukey. Un valor de p inferior a 0,05 se consideró estadísticamente significativo.

RESULTADOS

Actividad anti-inflamatoria

La inyección de CFA en la pata trasera causó inflamación, que alcanzó su máximo en las primeras 8 h. posteriormente, la inflamación disminuyó lentamente hasta el día 3 para los grupos del vehículo, DAC 20 y 60 mg/kg, y para el día 4 en el caso de los grupos DAC 40 mg/kg y Fenilbutazona, se presentó un aumento después del día 5, posteriormente se observó otra disminución entre los días 10 y 11, observándose un ligero aumento después de este día, además de comportarse los registros de inflamación de forma sostenida hasta el final del experimento. No se observaron lesiones secundarias asociadas al modelo farmacológico (Figura 3).



Figura 3. Estado físico del pie trasero derecho de tres ratas en cuestión al día 1 después del tratamiento profiláctico. (1) Vehículo, (2) Fenilbutazona 80 mg/kg, (3) DAC 60 mg/kg.

Dosificación.

Cada dosis evaluada del compuesto de DAC y de Fenilbutazona fue administrada diariamente durante 14 días. La primera dosis se administró una hora antes de la inyección de CFA en la almohadilla del pie posterior derecho (14). Las mediciones registradas con el pletismómetro digital a las 8 y 24 horas no mostraron diferencia significativa. (Figura 4).

Los resultados del análisis gráfico y estadístico de los datos de cada grupo durante los 25 días del experimento, registraron para el grupo control (administración sólo de vehículo y DMSO al 5%), un máximo de inflamación en el día 7, continuando con un aumento sostenido en el resto del experimento; para el grupo de DAC 20 mg/kg se observaron lecturas superiores al grupo control durante la mayoría de los días, teniendo un máximo de inflamación en el día 12, no se observaron diferencias significativas con los otros grupos.

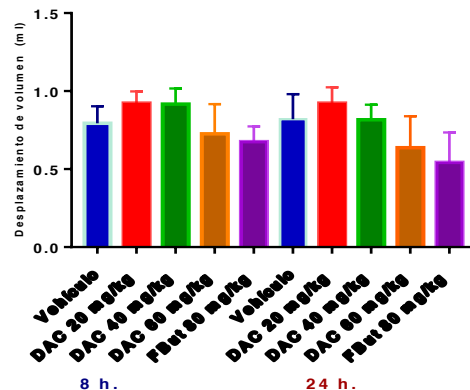


Figura 4. Mediciones de desplazamiento de volumen después de la administración vía oral de fenilbutazona (80 mg / kg) y de Diacetilcurcumina DAC (20, 40 y 60 mg / kg) Cada barra muestra la media de 3 lecturas \pm EEM. Los datos se analizaron mediante ANOVA seguido de la prueba de Tukey. $P < 0.05$.

Para el grupo de DAC 40 mg/kg no se encontró diferencia significativa con ninguno de los otros grupos; para el grupo de DAC 60 mg/kg se observó un efecto favorable de desinflamación, obteniendo lecturas muy similares a las del grupo de Fenilbutazona (referencia), registrándose diferencias significativas para esta dosis los días 12, 13, 14 Y 15 del experimento; para el grupo Fenilbutazona se observaron valores inferiores en las mediciones en comparación con el resto de los grupos, sin embargo para los días 23, 24 y 25 se observó un ligero aumento en la inflamación, probablemente debido al desarrollo de tolerancia en el efecto a esa dosis por parte del grupo. En general y en base al análisis estadístico realizado se registró un efecto antiinflamatorio con el tratamiento de DAC de 60 mg/kg para la fase crónica (Figura 5).

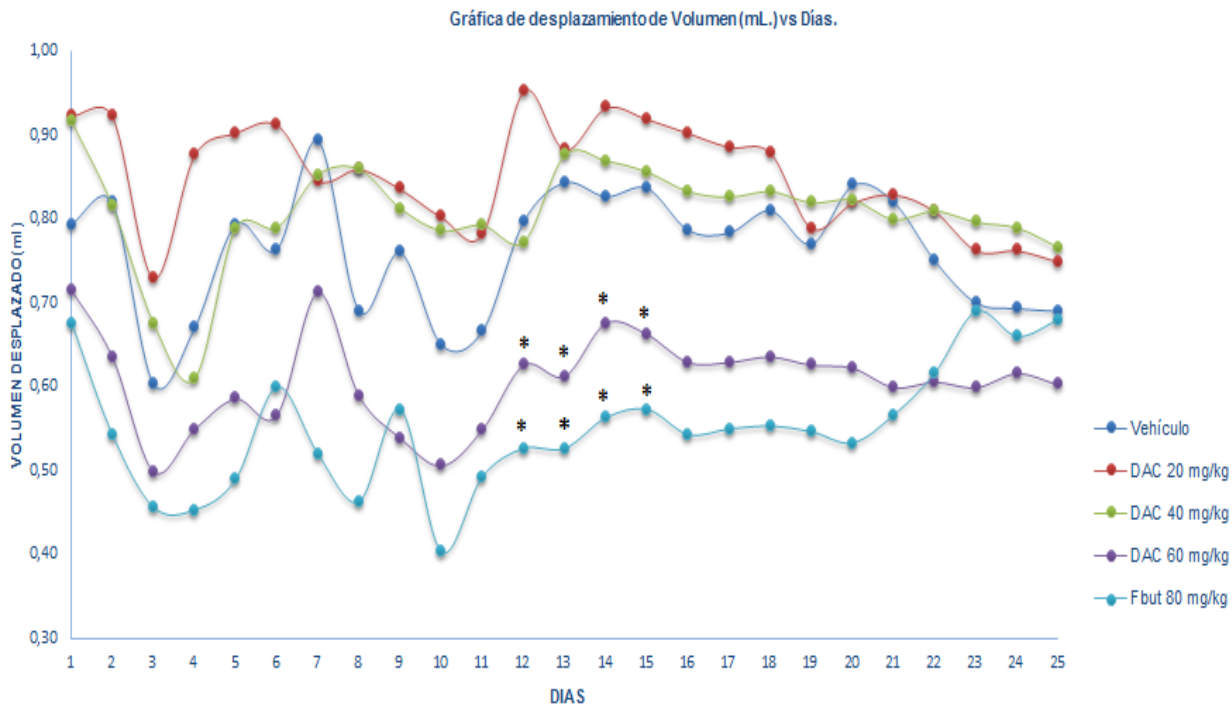


Figura 5. Mediciones registradas en el pletismómetro por 25 días, utilizando una n=3 (Rata Wistar) para los grupos: Fenilbutazona (80 mg/kg) DAC (20, 40 y 60 mg/kg). Cada punto en el transcurso del tiempo muestra la media de 3 mediciones realizadas a cada rata. Los datos se analizaron mediante ANOVA seguido de la prueba de Tukey $P < 0.05$

CONCLUSIONES

El compuesto Diacetilcurcumina molécula análoga de Curcumina tiene un efecto potencial como agente antiartrítico. Este estudio contribuye a proporcionar datos farmacológicos sobre una molécula semisintética con posible actividad antiartrítica, de igual manera respalda de forma indirecta el uso tradicional de *Cúrcuma longa* L. utilizada para condiciones inflamatorias.

Se identificó la dosis a la cual el compuesto tiene mayor efecto, por lo cual se podrá partir de estos datos para evaluar su actividad a otras dosis diferentes en estudios posteriores e identificar de manera más precisa el efecto anti-artrítico.

BIBLIOGRAFÍA

1. G. M. Vazquez A.J.Guerra Soto, et al. "Artritis reumatoide y dislipidemias", El Residente. 2013. p. 12-22.
2. M. R. Jurado., P. Stajnsznajder., et al, "Artritis reumatoide" España, 2010 pp. 62-65
3. S. Ekambaram., S.S. Perumal., V. Subramanian. "Evaluation of antiarthritic activity of *Strychnos potatorum* Linn seeds in Freund's adjuvant induced arthritic rat model" BMC Complementary and Alternative Medicine., Vol. 10, 2, 2010, p. 56.
4. H.P. Ammon., M.A. Wahl., "Pharmacology of *Curcuma longa*", *Planta Med.*, Vol. 57, 1991, pp. 1-7
5. P. S. de Cos., E. Pérez Urria, "Cúrcuma I (*Curcuma longa* L.)", *Reduca (biología)*, Vol. 7, 2, 2014, pp. 84-99
6. G. Grynkiewicz., P. Slifirski., "Curcumin and curcuminoids in quest for medicinal status". *Acta Biochimica Polonica (ABP)*, Vol. 59, 2, 2012 pp. 201-212.
7. E. Torres Rodríguez., et al, "Empleo de ultrasonido en la extracción de curcumina a partir de su fuente natural", *Revista Cubana de Plantas Medicinales.*, Vol. 19, 2014, pp. 14-20

8. Liu Jiankang., E. Head., H. Kuratsunf., C.W. Cotman., B. N. Ames, "*Comparison of the Effects of L-Carnitine and Acetyl-L-Carnitine on Carnitine Levels, Ambulatory Activity, and Oxidative Stress Biomarkers in the Brain of Old Rats*", Ann. N. Y. Acad. Sci., Vol. 1033, 2004, pp. 117-131
9. O.P. Sharma, "*Antioxidant activity of curcumin and related compounds*", Biochem. Pharmacol., Vol. 25, 1976, pp. 1811-1812.
10. P.S. Negi., L. R. Jagan., K.K. Sakariah, "*Antibacterial activity of turmeric oil: a byproduct from curcumin manufacture*", J. Agric Food Chem., Vol. 47, 1999, pp. 4297-4300
11. J.D. Sardi., et al. "*Antibacterial activity of diacetylcurcumin against Staphylococcus aureus results in decreased biofilm and cellular adhesion*", Journal of Medical Microbiology, Vol. 66, 6, 2017, pp. 816-824
12. V. Basile, et al. "*Curcumin derivatives: Molecular basis of their anti-cancer activity*". Biochemical Pharmacology, Vol. 78, 10, 2009, pp. 1305-1315
13. Y. Samanont., et al., "*Effects of manganese complexes of curcumin and diacetylcurcumin on kainic acid-induced neurotoxic responses in the rat hippocampus*" Biological & Pharmaceutical Bulletin, Vol. 30, 9, 2007, pp. 1732-1739
14. B.B Newbould, "*Chemotherapy of arthritis induced in rats by micobacterial adyuvant.*" Br. J. Pharmacol, Vol. 21, 1963, pp. 127-136.

REALIDAD AUMENTADA EN DISPOSITIVOS MÓVILES

Macaria Hernández Chávez¹, Luís F. Hernández Quintanar², Diego A. Fabila Bustos¹, Alberto Adhir Castelán Zermeño¹, Alberto García Santamaría¹, Erick Fernando Ángeles Jiménez¹

¹Instituto Politécnico Nacional, UPIIH, Ciudad del Conocimiento y la Cultura,
San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo, 42162

²Universidad Autónoma de la Ciudad de México, Plantel San Lorenzo, CDMX, México, 09790
macaria.hernandez@gmail.com

RESUMEN

En este trabajo se presenta el desarrollo de una aplicación para smartphone enfocada al aprendizaje de los estudiantes en el área de la ciencia de los materiales mediante realidad aumentada. La aplicación permite observar figuras 3D de diversas estructuras cristalinas, redes de Bravais, así como empaquetamientos compactos. Esto, debido a la dificultad que presentan los estudiantes para visualizar en 3D dichas estructuras (ángulos a, b, g y los lados abc que se usan como referencia), que se presentan en 2D tanto en pizarrón, como en los libros de texto. Para la elaboración de los modelos 3D, se emplearon softwares de cómputo como SolidWorks y 3DBuilder, así como Vuforia para la creación de las fichas de realidad aumentada. El resultado es una aplicación portable a disposición de usuarios con acceso a dispositivos con sistema Android o Windows y con una cámara incluida, la cual se utilizará para reconocer las fichas de realidad aumentada que al ser escaneada mostrará el modelo en el dispositivo. El modelo se puede mirar desde distintos puntos moviendo el dispositivo móvil y de esta forma dar una mejor perspectiva como en el caso de los empaquetamientos compactos que pueden resultar difíciles de visualizar incluso en una figura 2D. Esta app está enfocada al ámbito educativo como un recurso didáctico para el mejor aprendizaje de temas que mediante la visualización tridimensional resultan más fáciles.

INTRODUCCIÓN

El uso de dispositivos móviles ha revolucionado la inclusión de la sociedad a su entorno, presente como una invaluable herramienta por sus múltiples funciones tanto en el trabajo, entretenimiento y la educación. Los dispositivos como smartphone, laptops y tablets se mantienen como los más usados con 85%, 74% y 57% respectivamente en 2016 con una mayoría de usuarios entre 12 y 24 años de edad INEGI. La preocupación por el uso de dispositivos móviles en la educación es relevante debido a que los alumnos pueden usar estas herramientas como un medio de distracción, sin embargo, las distracciones siempre han existido, en realidad emplear estos aparatos logra captar el interés de los alumnos debido a que facilita una proyección gráfica más clara. Proponer imágenes en 2D y llevarlo a una comprensión tridimensional suele ser no del todo simple, el aporte de las nuevas tecnologías móviles sumado a herramientas digitales permiten fomentar formas innovadoras en la solución de estos problemas, como ha sido el uso de la realidad aumentada.

La Realidad Aumentada (AR) en la actualidad se posiciona con mayor fuerza en el área educativa debido a su versatilidad y aporte visual que en ciertas tareas representa una fuerte y atractiva herramienta al momento de comprender imágenes o sistemas desde un punto 3D [1]. La Realidad Aumentada es una tecnología que permite al usuario sobreponer en tiempo real la vista de la cámara en Smartphone, tablets y laptops u otros dispositivos a partir de fichas encriptadas mediante software.

El desarrollo de nuevas tecnologías que permitan a la sociedad la interacción con su entorno a llevado a la creación de herramientas como lo es la Realidad Aumentada, que con el paso del tiempo se relaciona con conceptos más comunes como lo es la Realidad Virtual, pero que, en contexto y logros de una sobre la otra, logro dar identidad propia.

Fue en 1992 donde se tomaría el nombre de Realidad Aumentada, la indagación científica y tecnológica han permitido que la herramienta madure de forma sana, por lo que múltiple aplicación en distintas áreas forman parte del éxito que representa, presentando monografías relevantes al tema [2]. En 1994 Paul Milgram y Fumio Kishino conceptualizan en su denominado "continuo de la virtualidad", lo que actualmente se conoce como Realidad Mezclada, donde elementos virtuales se encuentran con el espacio físico real [2]. A la postre, personajes como Ronald Azuma (1997), denoto las características propias a la Realidad Aumentada, que considero como un espacio que permite al

usuario ver en cualquier momento un mundo real, al cual se superponen objetos virtuales, coexistiendo en un mismo momento [3].

¿Cómo puede aportar la realidad aumentada en el análisis estructuras de materiales?

Desarrollar una aplicación para smartphone que permita al usuario no solo actuar como observadores pasivos, sino que permita interactuar con el contenido presente. Para ello con el apoyo de herramientas digitales como SolidWorks, Unity 3D, 3D Builder, Visual Studio, fue posible modelar y elaborar un apk portable para las plataformas Android y Windows que permite a los alumnos familiarizarse con las estructuras básicas en el área de la ciencia de los materiales, contando con todas las ventajas que un modelo virtual en 3D da.

Realidad Aumentada y educación

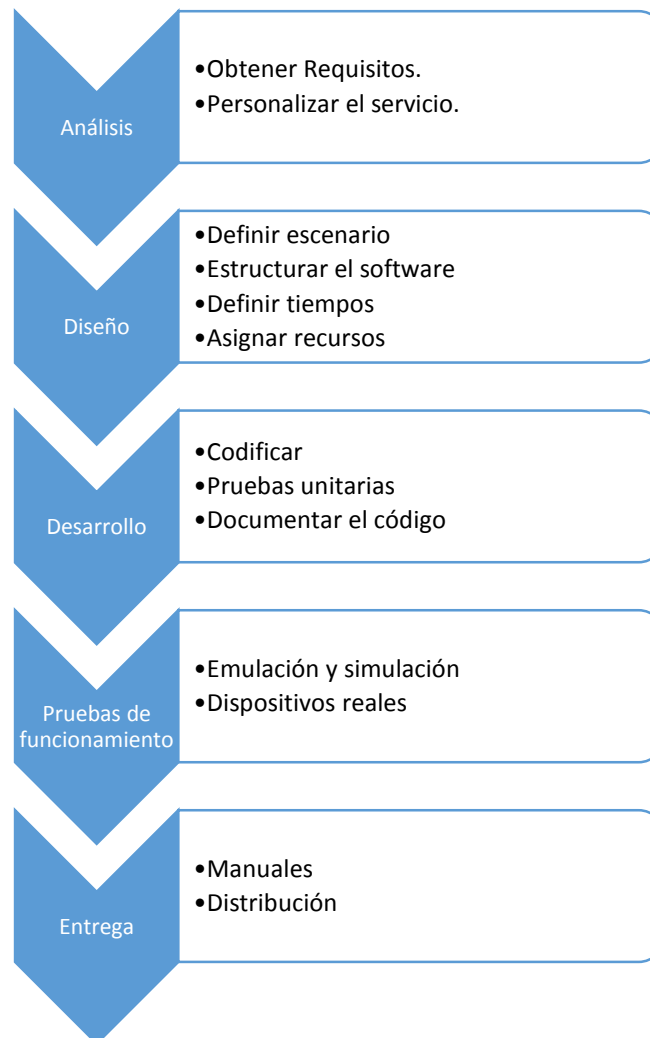


Fig. 1. Método de cascada para el desarrollo de software.

En la sociedad introducir nuevas tecnologías suele ser no del todo aceptada, los inconvenientes siempre presentes como lo son la dependencia de elementos técnicos para interactuar, desvinculación del usuario con la sociedad, el sexismo, entre otras mantienen alegados a distintos sectores [4]. A pesar de los posibles contras, la posibilidad de mezclar el mundo real con el virtual conjunta a la perfección la enseñanza didáctica y ha sido bien recibida por parte de los alumnos dentro de las aulas escolares. Una de las experiencias más recurrentes han sido aquellas basadas en la metáfora del libro aumentado, este cuenta con marcadores impresos que permiten acceder a información gráfica 3D, presentando figuras virtuales sobresaliendo de las páginas del libro a través

de la cámara de un ordenador con webcam. Uno de los primeros proyectos fue desarrollado por el Human Interface Technology Laboratory de la Universidad de Washington, que presentó el denominado "Magic Book" en el cual la atracción principal se centra en el valor didáctico que incluye a las aulas.

DESARROLLO

A. *Método de cascada para el desarrollo de software.*

Waterfall o cascada: Este es el método de desarrollo de software de gestión más tradicional. Esta técnica de gestión de proyectos está basada en el análisis de los requisitos a cumplir por un programa de gestión desde el inicio. Es decir, una vez detectados los objetivos a alcanzar, el diseño y la planificación de la instalación de la solución. El diseño, en cambio, se encarga de asegurar que se cumplan los requisitos y necesidades acordados en el inicio del proceso.

Análisis: En la actualidad, desarrollar una aplicación es posible y existen una variedad de software que facilitan tareas que van desde la fabricar los modelos 3D, control de un motor gráfico que se encarga principalmente de contenidos digitales 2D y 3D, hasta elaborar las fichas de encriptación, por medio de extensiones de los mismos softwares es posible importar archivos de una plataforma a otra, reduciendo razonablemente el tiempo de elaboración. Solid Works, Unity 3D, 3D Builder, Visual Studio, en sus versiones gratuitas cuentan con las herramientas necesarias para iniciar en el diseño de aplicaciones, sumado a la incursión de aparatos móviles con sistemas operativos como Android o Windows, amigables al momento de hacer compilaciones con el sistema. Trabajar en proyectos escolares como el que se presenta, incorporando el atractivo visual de la Realidad Aumentada es posible para cualquier persona con acceso a una computadora.

B. *SolidWorks*

Es un software de modelado comúnmente utilizado en la industria automotriz y afines, permite a los usuarios asociar y realizar tareas en la construcción de objetos con una visión de 360°.

C. *Unity 3D*

Hoy en día existen una gran variedad de motores gráficos como (Unity Game Engine) la plataforma para crear juegos y experiencias interactivas 3D y 2D altamente optimizados como simulaciones de entrenamiento y visualizaciones médicas y arquitectónicas, en plataformas móviles, de escritorio (Microsoft Windows, OS X y Linux), web, consola, entre otras.

D. *Visual Studio*

Aunque Visual Studio cuente con su propio compilador de C#, y se puede utilizar para comprobar si tiene errores en sus scripts de C#. Unity sigue utilizando su propio compilador de C# para compilar sus scripts. Usar el compilador de Visual Studio es muy útil, ya que significa que usted no tiene que devolverse a Unity todo el tiempo para ver si tiene algún error o no.

Diseño: Para diseñar cada una de las redes cristalinas, empaquetamientos y fracturas fue necesario fabricarlos dentro de un programa específico a fin, Solid Works (En su versión libre 2017) fue la herramienta digital con la capacidad de consentir las restricciones teóricas de cada figura sin problemas de profundidad ni simetría geométrica [5].

El proceso inicia en la fabricación de un croquis trazado en un plano 2D (Fig. 2). En este punto es simple marcar las cotas correspondientes a cada modelo Posteriormente, las funciones del software permiten la construcción del solido en 3D, (Fig. 3), el proceso continúa, hasta que finalmente se logra la figura deseada (Fig. 4).

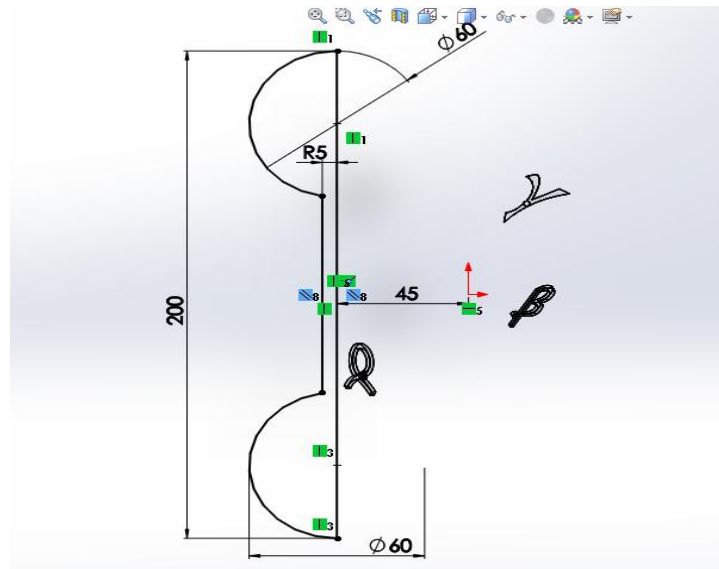


Fig. 2 Diseño de croquis en un plano 2D.

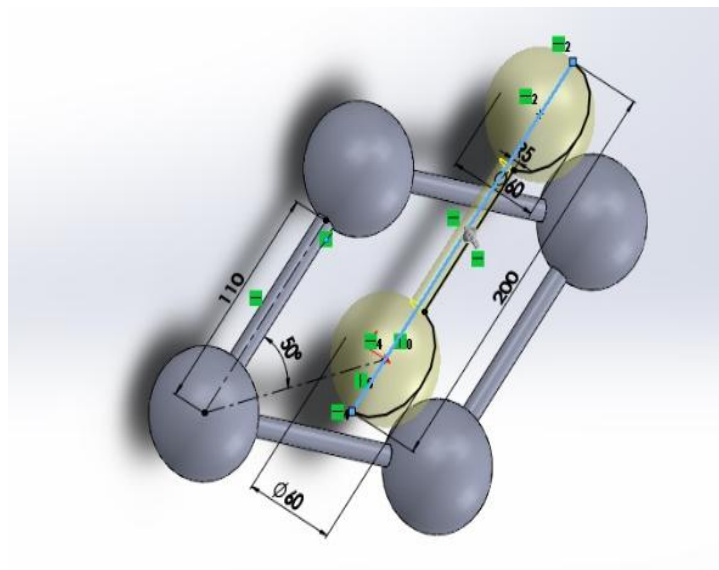


Fig. 3 Construcción de una figura sólida a partir del croquis dibujado.

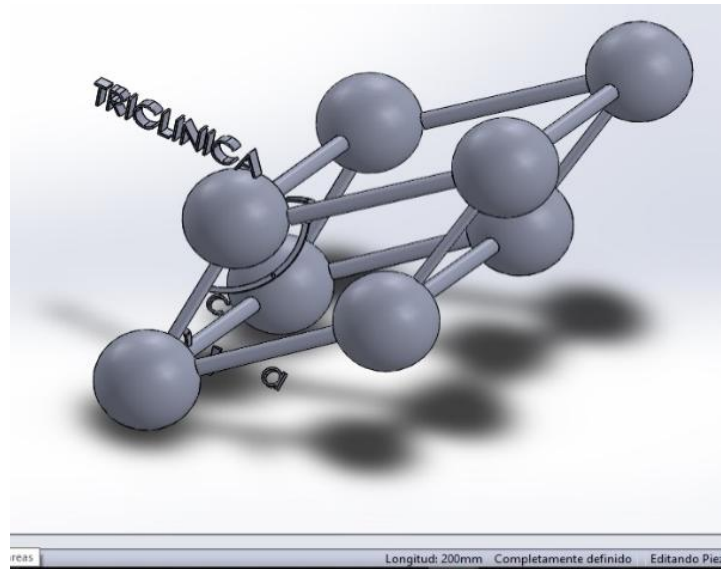


Fig. 4 Estructura en su totalidad.

En algunos casos la complejidad de su construcción es mayor (Redes cristalinas FCC, BCC Y HCP específicamente) ya que se mantiene una relación entre el radio, la estructura y localización de cada átomo, en la tabla 1 se muestran algunos modelos realizados, así como sus especificaciones teóricas. Implementación: El resultado final es una aplicación portable de realidad aumentada la cual está a disposición de los usuarios que cuenten con dispositivos con sistema operativo Android o Windows y tengan una cámara incluida, la cual se utiliza para reconocer fichas que al ser escaneadas por la cámara muestran el modelo 3D correspondiente a la ficha. El dispositivo puede moverse para recorrer el modelo mientras la ficha esta estática.

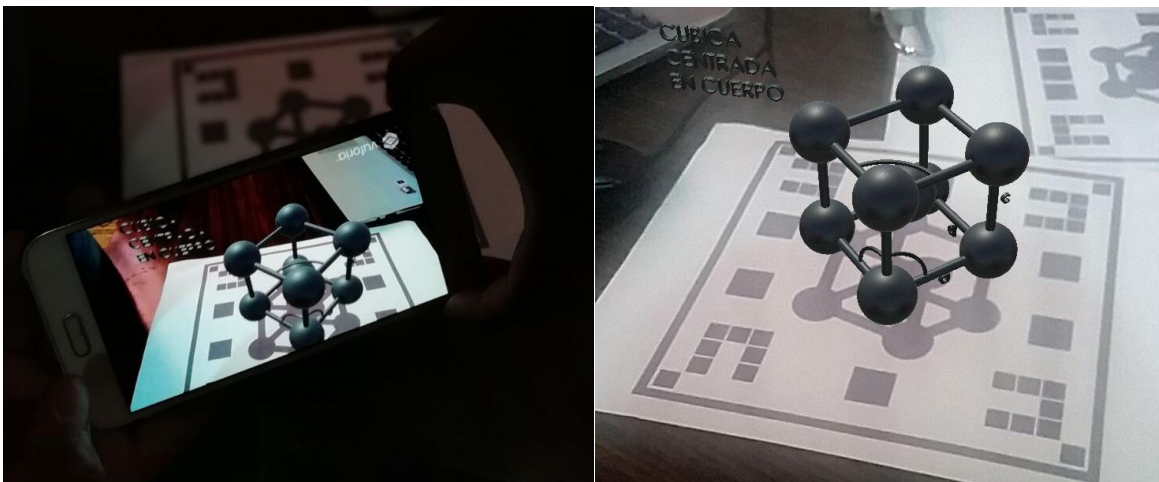


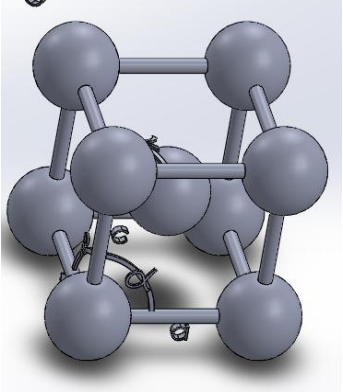

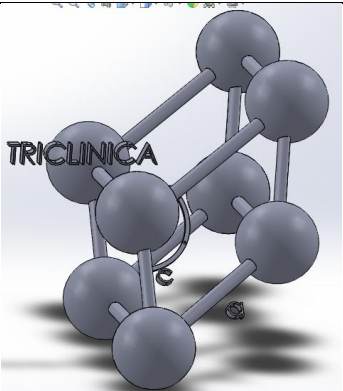
Fig. 5. Celda unitaria sobre el código QR con enfoque de cámara de un celular.

CONCLUSIONES

El avance en el desarrollo de nuevas tecnologías tiene un enorme potencial en el ámbito educativo, el uso de dispositivos móviles puede tener un gran beneficio en la educación con el desarrollo de nuevas aplicaciones para estas plataformas que no son solo para entretenimiento o para perder el tiempo, pero aún existe rechazo por parte de los docentes y de padres de familia para aceptar su uso por falta de conocimiento en estos temas. Esta aplicación muestra un producto que no sólo

puede usarse en el aula, sino que genera otro ambiente de aprendizaje portable. El uso de la realidad aumentada por los estudiantes, puede ser una herramienta útil que presenta no solo información visual sino también una forma de visualizar objetos en 3D en vez de verlos en 2D en un libro. La educación debe ir cambiando conforme avanza la tecnología y ya que esta ayuda a mejorar y facilitar nuestra vida puede implementarse y adaptarse para mejorar y facilitar el aprendizaje de los estudiantes. Existe una gran variedad de ideas en torno al uso de las nuevas tecnologías que pueden ser usadas para fines educativos. La era tecnológica en la que viven los jóvenes debe aprovecharse para mejorar el aprendizaje haciéndolo más atractivo, interactivo y aprovechando que la mayoría ya cuenta con dispositivos móviles hacerlo portable. El contenido de la aplicación está diseñado para aplicarse en estudiantes de nivel superior que cursen materias relacionadas con estructura de materiales. El contenido de la aplicación puede ser adaptado para poder aplicarse con otras asignaturas.

Se desarrolló una aplicación portable de realidad aumentada, presenta modelos 3D de estructuras atómicas, empaquetamientos, dislocaciones. Los modelos se desarrollaron en SolidWorks un software CAD (Diseño Asistido por Computadora) para modelado en 2D y 3D, La aplicación se desarrolló en Unity 3D. Es un recurso didáctico que facilita el entendimiento de estos temas mediante la visualización en tercera dimensión con el uso de realidad aumentada mediante la cámara de dispositivos móviles.

Tabla 1. Especificaciones teóricas de diseño en longitudes y ángulos de figuras			
Estructura	longitudes a, b y c	ángulos α , β y γ	Imagen
Cubica centrada en cuerpo	$a=b=c$	$\alpha=\beta=\gamma$	
Paquete cerrado hexagonal	$a=b \neq c$	$\alpha \neq \beta \neq \gamma$	
Triclínica	$a \neq b \neq c$	$\alpha \neq \beta \neq \gamma$	

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Instituto Politécnico Nacional y a la Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería Campus Hidalgo por el apoyo brindado.

REFERENCIAS

1. J. P. Carracedo, C. L. Martínez Méndez. Realidad Aumentada: Una Alternativa Metodológica en la Educación Primaria. Vol. 7, 2012.
2. G. Estrada, José Alejandro Franco Calderón. Realidad Aumentada y Educación. 2015.
3. D. Barriga Arceo, G. Hernández Rojas. Estrategias docentes para un aprendizaje significativo. 2da Edición, 2007.
4. D. R. Torres. Realidad Aumentada. Educación y Museos. ICONO 14. Pág. 212-226, 2012.
5. Universidad Politécnica de Madrid Gabinete de Tele-Educación. Realidad Aumentada en Educación, 2017.

ESTUDIO ESTRUCTURAL Y FOTOLUMINISCENTE DE HIDROXIAPATITA DOPADA CON EUROPIO SINTERIZADA POR LA TÉCNICA SPS

Giovanni García Domínguez¹, Aristeo Garrido Hernández², Genaro Iván Cerón Montes², Ángel de Jesús Morales Ramírez¹ y Sebastián Díaz de la Torre¹

¹ Instituto Politécnico Nacional, CIITEC IPN, Cerrada de Cecati S/N, CP 02250, Col. Santa Catarina Azcapotzalco Ciudad de México, México, ² Universidad Tecnológica de Tecámac, UTTEC, Carretera Federal México, Pachuca Km 37.5, CP 55740, Col. Sierra Hermosa, Tecámac, Estado de México, México

RESUMEN

La presente investigación aborda el estudio de las propiedades estructurales y fotoluminiscentes de la hidroxiapatita (HA) y la hidroxiapatita dopada con europio (HA:Eu) sintetizadas por el método hidrotermal y sinterizadas por la técnica Spark Plasma Sintering (SPS). Se evaluó la síntesis de hidroxiapatita a pH 10, 11 y 12 por el método hidrotermal, los polvos obtenidos se caracterizaron mediante espectroscopia infrarroja, difracción de rayos X, microscopía electrónica de barrido, espectroscopia Raman y espectroscopia de luminiscencia. Las muestras HA y HA:Eu se sinterizaron usando la técnica SPS a 900 y 1200 ° C. Los patrones de difracción de rayos X mostró que los polvos de HA y HA:Eu cristalizan en fase hexagonal. La presencia de iones Eu^{3+} tiende a estabilizar la fase hexagonal de hidroxiapatita. La hidroxiapatita no dopada sinterizada a 1200 °C revela una cantidad significativa de fosfato tricálcico (β -TCP) como resultado de su descomposición. La espectroscopia de fotoluminiscencia revela que al aumentar la temperatura de sintetizado se obtienen diferentes líneas de emisión (transiciones ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_0$, ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_1$ and ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_2$) debido al sustitución del sitio de calcio por el ion europio en la estructura de hidroxiapatita.

INTRODUCCIÓN

La hidroxiapatita ($(\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2)$ (HA)) es la fase más estable del fosfato de calcio bajo condiciones fisiológicas, está presente en el cuerpo humano como el principal constituyente inorgánico de huesos y dientes [1]. Debido a su excelente biocompatibilidad y alta estabilidad, las nanoestructuras HA sintéticas se han considerado como excelentes candidatos en aplicaciones biomédicas [2]. Diversas investigaciones se han dedicado a la síntesis de nanoestructuras de HA sintéticas con diferentes morfologías, como nanorods, nanohilos, nanotubos y estructuras tridimensionales [3] Con estas diferentes morfologías y tamaño de partículas, las propiedades de la HA han sido potencializadas y han sido investigadas para aplicaciones en reparación ósea [4], ingeniería de tejidos[5], administración de fármacos y genes, y otras áreas. En particular, la biocompatibilidad y las propiedades osteoconductoras de HA lo han hecho útil como material de implante[1]. Los nuevos desarrollos en la producción de partículas de HA nanométricas han dado lugar a muchas aplicaciones nuevas, esto aunado a la funcionalización y diversos dopajes que se han realizado con diversos materiales como la incorporación de tintes orgánicos, puntos cuánticos y elementos de tierras raras han convertido a la hidroxiapatita en el biomaterial más utilizado actualmente.[6],[7],[8].

Por otra parte, los iones lantánidos que incluyen Eu^{3+} y Gd^{3+} son imitaciones funcionales de los iones Ca^{2+} . Por otro lado, diferentes estudios han demostrado que estos dopantes pueden afectar el ciclo de remodelación ósea y tienen potencial para tratar trastornos de densidad ósea como la osteoporosis[9]. El ion europio es utilizado como activador de dopaje en materiales con base de calcio debido a su bajo nivel de toxicidad, fotoestabilidad, altas estabilidades químicas y térmicas, así como a un alto rendimiento cuántico de luminiscencia[10].

Se han utilizado varias técnicas de síntesis, como los más destacados son los métodos sol-gel, hidrolisis e hidrotermal, en la síntesis de cristales de HA[11]. Entre estos métodos, vale la pena mencionar que al tratarse de reacciones químicas tienen ventajas de controlar la morfología y el tamaño de las partículas, estos métodos afirman tener un control preciso sobre su microestructura y morfología dentro de ellos el método hidrotermal ofrece ventajas tales como la homogeneidad química, la producción de cristales grandes con alta calidad, sin la necesidad de usar catalizador y surfactantes caros.[12][3][10]

Debido a la importancia de la hidroxiapatita como biomaterial, se han llevado a cabo una gran cantidad de estudios para fabricar productos de HA por diversos métodos de sinterización, algunos de ellos son prensado en caliente convencional (HP) sin presión y presurizado y por Spark Plasma Sintering (SPS)[13]. Aunque SPS ha sido ampliamente utilizado para consolidar muestras metálicas a altas densidades hay pocos reportes de aplicaciones de esta técnica para producir cerámicas densas para ingeniería biomédica y aplicaciones luminiscentes. Durante el proceso de SPS, se produce un fuerte campo electromagnético en los espacios intersticiales producidos en el acomodo de las partículas compactadas dicho campo, eventualmente, activará el potencial químico en la superficie del óxido, lo que promoverá su consolidación[14]. El uso de temperaturas más bajas y tiempos de retención más cortos han hecho posible sinterizar polvos nanométricos a valores de densidad casi teóricos con poco crecimiento de grano mediante el uso de SPS. El efecto de la presión aplicada conduce a una reorganización de partículas que contribuye a mejorar la sinterización. Recientemente, R. Orrú et al.[15] reportó un material completamente denso de hidroxiapatita sin fases secundarias usando SPS a 900 ° C. El producto sinterizado, que consiste en granos de hidroxiapatita de tamaño submicrométrico, muestra transparencia óptica y buenas propiedades mecánicas.

Una de las principales limitantes del procesamiento térmico de HA está relacionada con su inestabilidad termoquímica. De hecho, la descomposición de HA tiene lugar cuando se encuentran condiciones de alta temperatura durante la condensación de polvos[15]. En consecuencia, a menudo se producen efectos negativos sobre las características mecánicas y biológicas de los materiales resultantes. En este contexto, el proceso de sinterizado por SPS es un método adecuado para obtener productos cerámicos con alta densidad (~99%) en condiciones de temperatura más bajas y tiempos de proceso más cortos en comparación con otros métodos tales como el prensado en caliente.

En el presente estudio, se presentan las propiedades estructurales y fotoluminiscentes de los polvos de HA y HA:Eu sintetizados por el método hidrotermal. También se presenta el estudio del sinterizado de HA y HA: Eu por la técnica SPS.

PARTE EXPERIMENTAL

En las síntesis HA y HA: Eu por vía hidrotermal, se usaron como precursores nitrato de calcio ($\text{CaNO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) (Mallinckrodt 99%) e hidrógeno fosfato de di-amonio ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) (Baker Analyzed 98.7%). Se usó óxido de europio Eu_2O_3 en un 10% molar como ion dopante. Para la síntesis primero, se añadió gota a gota solución de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ a 0,5 M a la solución de $\text{CaNO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ a 0,5 M, durante la adición la solución de Ca se mantuvo bajo agitación a 50 ° C. (Para las muestras dopadas se incorporó el ion europio al 10% molar en la solución de Ca). A continuación, la solución final se ajustó a pH = 11 usando una solución de NaOH (1,5 M). Posteriormente, la solución final se vertió en una autoclave forrada con Teflon® a 200 ° C durante 15 horas. Una vez que terminó la reacción hidrotermal, la autoclave se retiró del horno y se enfrió a temperatura ambiente. Los polvos obtenidos se lavaron con agua destilada usando una centrifuga (10000 rpm, 15 minutos cada lavado). Finalmente, estos polvos se secaron en un horno a 120 ° C durante 15 horas.

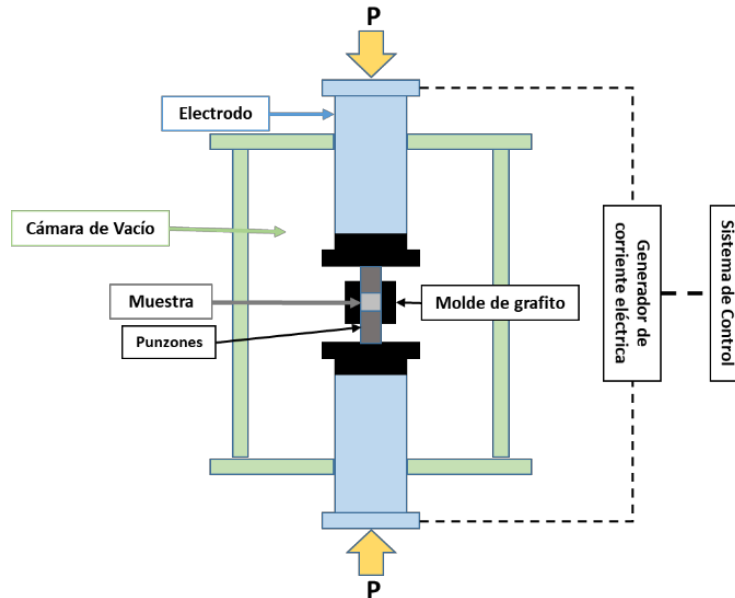


Figura 6. Diagrama Spark Plasma Sintering (SPS)

Se polvos de hidroxiapatita no dopada (HA) y hidroxiapatita dopada con europio a 10% mol (HA: Eu) para sinterizar en un SPS1050 modelo DR. SINTER®. Se utilizó un dado de 10 mm de diámetro para obtener el condensado. Las características de los polvos sinterizados a 900 ° C y 1200 ° C se investigaron realizando todos los experimentos de SPS a valores constantes del tiempo de retención ($t_D = 6$ min), la presión mecánica ($P = 20$ MPa) y la velocidad de calentamiento (75 ° C / min).

RESULTADOS

El análisis estructural se realizó mediante DRX a las muestras antes y después del sinterizado. La Fig. 1 a) y b) muestra los patrones de difracción de las muestras de HA y Ha:Eu respectivamente, el perfil de difracción de las muestras sintetizadas corresponde a una estructura hexagonal correspondiente a la HA de acuerdo a la carta de difracción JCPDS n.º: 09-432.

En el caso de los difractogramas de HA (Figura 2) se muestra el cambio que sufre la hidroxiapatita a causa de la temperatura. El espectro HA s/TT correspondiente a la muestra después del proceso hidrotermal, no se presentan fases secundarias indicando que las condiciones de síntesis fueron adecuadas para su cristalización en la fase hexagonal. El espectro HA c/TT fue de la muestra de HA tratada térmicamente, después de dicho tratamiento presenta fases de acuerdo con la carta de difracción JCPDS n.º 09-348 correspondiente a la descomposición de hidroxiapatita en fosfato tricálcico (TCP)[16][17].

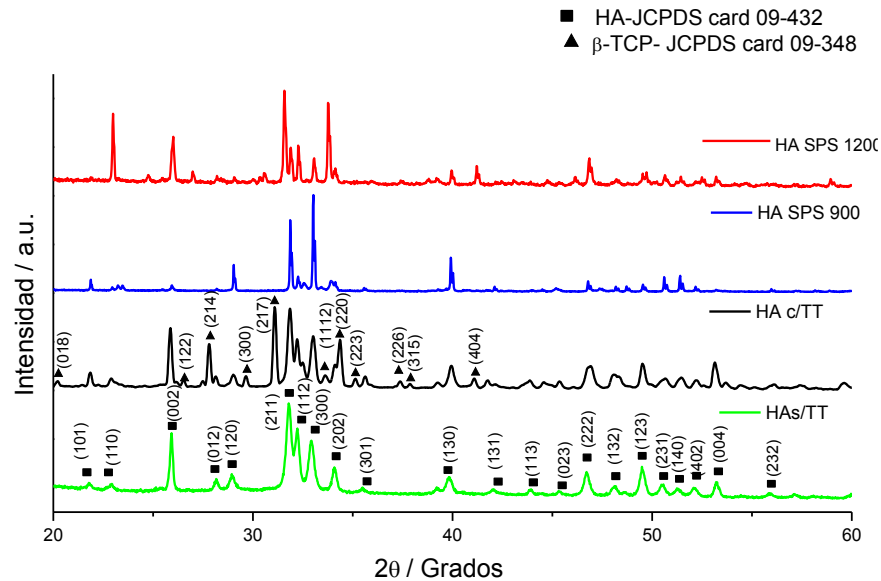


Figura 7. Difractogramas muestras HA sintetizada, tratada a 700°C y sinterizada a 900 y 1200°C

Por otro lado, el HA dopado con europio sinterizado a 900 y 1200 ° C, (HA: Eu900S y HA: Eu1200S respectivamente) presenta patrones de difracción muy similares que están asociados con la fase hexagonal de HA (figura 3). Por lo tanto, se evidencia que el dopante de europio estabiliza la HA ya que no se pudo detectar la presencia de α -TCP y β -TCP. Además de las condiciones de sinterizado SPS, las diferencias de temperatura en la descomposición de HA pueden ser el resultado pueden ser producto del tamaño de partícula, la morfología y también pueden verse afectados por la presencia de iones Eu.

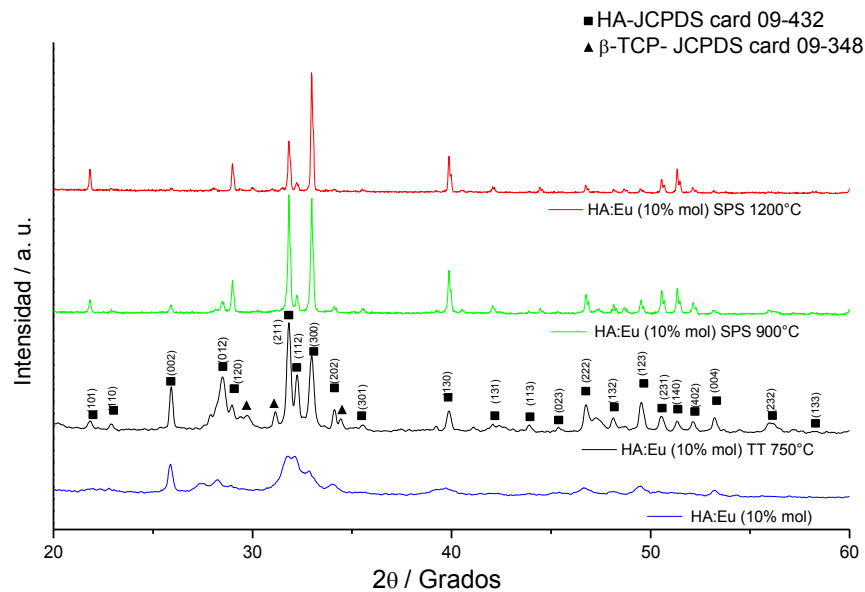


Figura 8. Difractogramas muestras HA:Eu (10% mol) sintetizada, tratada a 700°C y sinterizada a 900 y 1200°C

Los espectros infrarrojos en la Figura 4 presentan espectros ATR-FTIR de muestras HA y HA: Eu respectivamente, las bandas de absorción se asignan a las vibraciones del grupo fosfato y se ubican

alrededor de 1090 y 1022 cm^{-1} (ν_3), 961 cm^{-1} (ν_1), 602 y 560 cm^{-1} (ν_4). Las bandas de absorción centradas a 630 cm^{-1} se atribuyen al modo de vibración del grupo hidroxilo. [16][18][19]

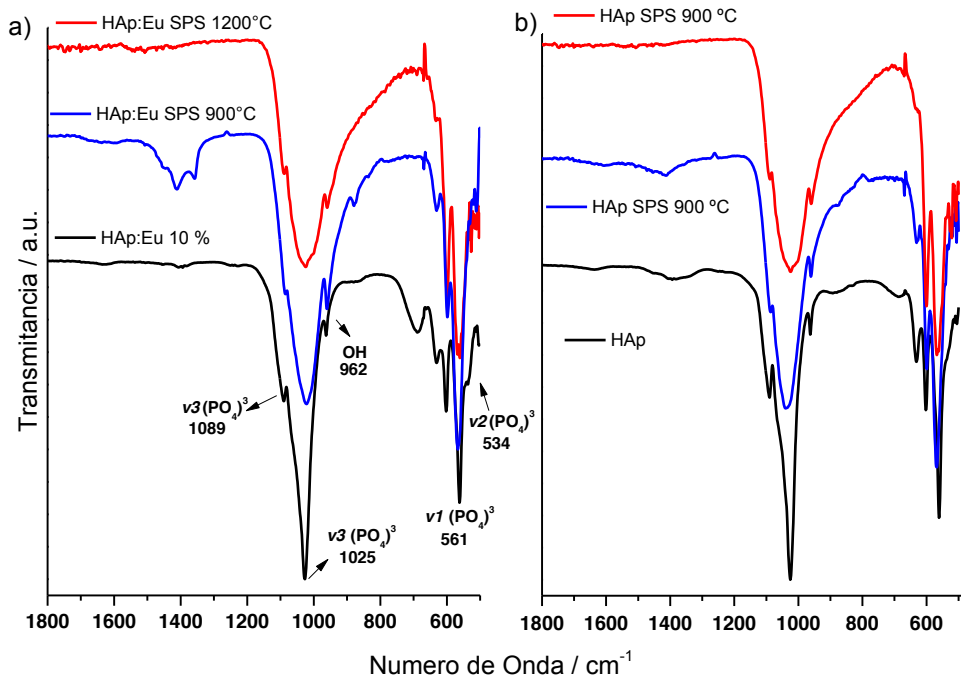


Figura 9. Espectro FT-IR muestras HA y HA:Eu (10% mol) sintetizada, tratada a 700°C y sinterizada a 900 y 1200°C

Las propiedades de fotoluminiscencia de las muestras se caracterizaron adicionalmente por los espectros de excitación y emisión, como se muestra en la Figura 5. Los espectros de emisión de polvos y sinterizados de HA:Eu fueron excitados con una longitud de onda de 394 nm (Figura 4b)) El polvo presenta las bandas de emisión características del Eu^{3+} , estas bandas son causadas por debido las transiciones $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_{0-4}$ de Eu^{3+} . HA tratado térmicamente: Eu presenta dos picos de emisión amplios centrados a 592 nm y 616 nm. Estos picos corresponden a las transiciones típicas $5\text{D}_0 \rightarrow 7\text{F}_1$ y $5\text{D}_0 \rightarrow 7\text{F}_2$. Estas bandas de emisión características son consistentes con el ion de europio que ocupa el sitio Ca^{2+} (I) [7][10][20][21].

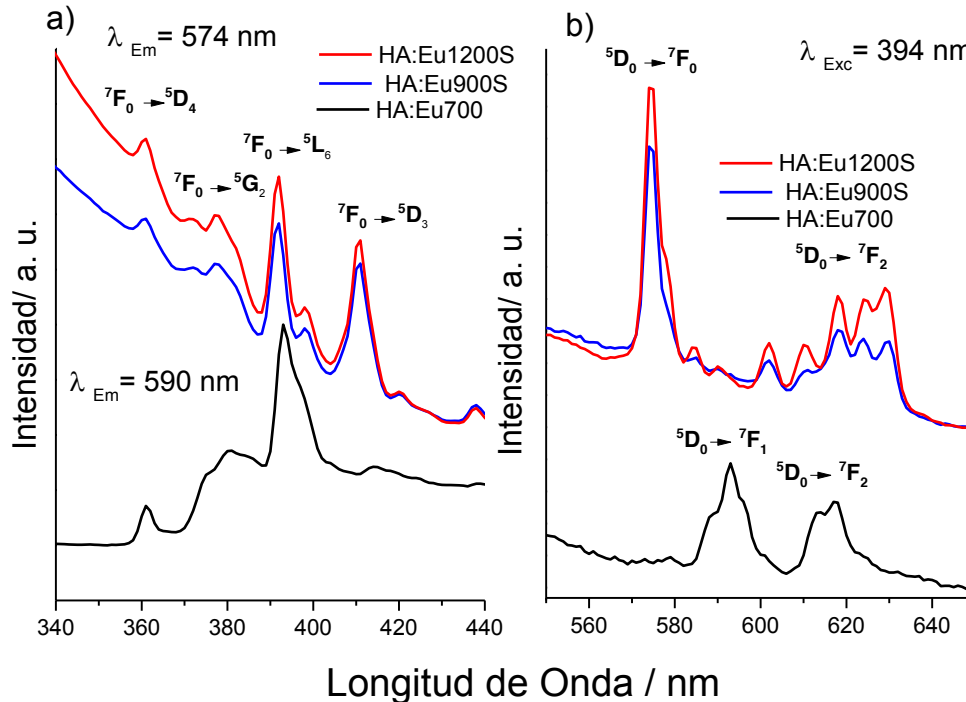


Figura 5. Espectros de fotoluminiscencia de polvos de HA: Eu (10 mol%) tratados térmicamente y sinterizados a) excitación b) emisión

CONCLUSIONES

Los polvos de hidroxiapatita dopados y no dopados con europio se sintetizaron con éxito por el método hidrotérmico y fueron sinterizados mediante la técnica SPS. Los análisis estructurales detallados demostraron que la fase hexagonal de los polvos de HA cambia en β -TCP en función de la temperatura de sinterizado. El europio estabiliza la fase hexagonal de la hidroxiapatita, lo que también conduce a la reducción del tamaño del grano, cambiando la porosidad de los sinterizados. La temperatura en el proceso de sinterizado promueve la migración de Eu^{3+} de Ca^{2+} (I) a Ca^{2+} (II) cambiando las líneas de emisión de ion europio.

BIBLIOGRAFÍA

1. E. S. Ahn, N. J. Gleason, A. Nakahira, and J. Y. Ying, "Nanostructure Processing of Hydroxyapatite-based Bioceramics," *Nano Lett.*, vol. 1, no. 3, pp. 149–153, 2001.
2. K. Agrawal, G. Singh, D. Puri, and S. Prakash, "Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite Powder by Sol-Gel Method for Biomedical Application," *J. Miner. Mater. Charact. Eng.*, vol. 10, no. 8, pp. 727–734, 2011.
3. H. S. Gupta and F. Guitia, "An effective morphology control of hydroxyapatite crystal via hydrothermal synthesis," *Cryst. Growth Des.*, vol. 9, pp. 466–74, 2009.
4. "improvement of the bone pin interface strength in osteoporotic bone using hydroxyapatite-coated tapered external fixation pins . a prospective randomized clinical study in wrist," p. 6366581, 2000.
5. R. Eia, "INGENIERÍA DE TEJIDO ÓSEO : Consideraciones Básicas," pp. 93–100, 2006.
6. H. Wang *et al.*, "Multifunctional TiO_2 nanowires-modified nanoparticles bilayer film for 3D dye-sensitized solar cells," *Optoelectron. Adv. Mater. Rapid Commun.*, vol. 4, no. 8, pp. 1166–1169, 2010.
7. S. P. Mondéjar, A. Kovtun, and M. Eppe, "Lanthanide-doped calcium phosphate nanoparticles with high internal crystallinity and with a shell of DNA as fluorescent probes in cell experiments," *J. Mater. Chem.*, vol. 17, no. 39, p. 4153, 2007.
8. P. Yang, Z. Quan, C. Li, X. Kang, H. Lian, and J. Lin, "Bioactive, luminescent and mesoporous

- europium-doped hydroxyapatite as a drug carrier," *Biomaterials*, vol. 29, no. 32, pp. 4341–4347, 2008.
9. E. Landi, A. Tampieri, G. Celotti, S. Sprio, M. Sandri, and G. Logroscino, "Sr-substituted hydroxyapatites for osteoporotic bone replacement," *Acta Biomater.*, vol. 3, no. 6, pp. 961–969, 2007.
 10. C. S. Ciobanu, S. L. Iconaru, F. Massuyeau, L. V. Constantin, A. Costescu, and D. Predoi, "Synthesis, structure, and luminescent properties of europium-doped hydroxyapatite nanocrystalline powders," *J. Nanomater.*, vol. 2012, 2012.
 11. J. H. Kim, S. H. Kim, H. K. Kim, T. Akaike, and S. C. Kim, "Synthesis and characterization of hydroxyapatite crystals: A review study on the analytical methods," *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 62, no. 4, pp. 600–612, 2002.
 12. Y. Wang, S. Zhang, K. Wei, N. Zhao, J. Chen, and X. Wang, "Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite nanopowders using cationic surfactant as a template," *Mater. Lett.*, vol. 60, no. 12, pp. 1484–1487, 2006.
 13. A. J. Buys, C. C. Sorrell, A. Brandwood, and B. K. Milthorpe, "Hydroxyapatite sintering characteristics: correlation with powder morphology by high-resolution microscopy," *J. Mater. Sci. Lett.*, vol. 14, no. 10, pp. 744–747, 1995.
 14. N. F. Syamimi, K. Amin Matori, W. F. Lim, S. Abdul Aziz, and M. H. Mohd Zaid, "Effect of sintering temperature on structural and morphological properties of europium (III) oxide doped willemite," *J. Spectrosc.*, vol. 2014, pp. 1–9, 2014.
 15. A. Cuccu *et al.*, "Consolidation of different hydroxyapatite powders by SPS: Optimization of the sintering conditions and characterization of the obtained bulk products," *Ceram. Int.*, vol. 41, no. 1, pp. 725–736, 2015.
 16. R. N. Panda, M. F. Hsieh, R. J. Chung, and T. S. Chin, "FTIR, XRD, SEM and solid state NMR investigations of carbonate-containing hydroxyapatite nano-particles synthesized by hydroxide-gel technique," *J. Phys. Chem. Solids*, vol. 64, no. 2, pp. 193–199, 2003.
 17. F. Chen, Z. C. Wang, and C. J. Lin, "Preparation and characterization of nano-sized hydroxyapatite particles and hydroxyapatite/chitosan nano-composite for use in biomedical materials," *Mater. Lett.*, vol. 57, no. 4, pp. 858–861, 2002.
 18. A. Rapacz-Kmita, C. Paluszkiwicz, A. Ślósarczyk, and Z. Paszkiewicz, "FTIR and XRD investigations on the thermal stability of hydroxyapatite during hot pressing and pressureless sintering processes," *J. Mol. Struct.*, vol. 744–747, no. SPEC. ISS., pp. 653–656, 2005.
 19. J. Liu, X. Ye, H. Wang, M. Zhu, B. Wang, and H. Yan, "The influence of pH and temperature on the morphology of hydroxyapatite synthesized by hydrothermal method," *Ceram. Int.*, vol. 29, no. 6, pp. 629–633, 2003.
 20. R. J. Wiglusz, A. Kedziora, A. Lukowiak, W. Doroszkiewicz, and W. Strek, "Hydroxyapatites and Europium(III) doped hydroxyapatites as a carrier of silver nanoparticles and their antimicrobial activity," *J. Biomed. Nanotechnol.*, vol. 8, no. 4, pp. 605–612, 2012.
 21. S.-L. Iconaru, M. Motelica-Heino, and D. Predoi, "Study on Europium-Doped Hydroxyapatite Nanoparticles by Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Their Antimicrobial Properties," *J. Spectrosc.*, vol. 2013, pp. 1–10, 2013.
 22. F. R. O. Silva, N. B. De Lima, A. H. A. Bressiani, L. C. Courrol, and L. Gomes, "Synthesis, characterization and luminescence properties of Eu³⁺-doped hydroxyapatite nanocrystal and the thermal treatment effects," *Opt. Mater. (Amst.)*, vol. 47, pp. 135–142, 2015.

ALIANZA MARIPOSA MONARCA

Mariana Valeria Cañedo Montaña, Luis Alejandro Grijalva Alvarado, Melissa Sanabia Salas

Universidad de Sonora

RESUMEN

Alianza Mariposa Monarca es un proyecto independiente de estudiantes de la licenciatura en biología de la Universidad de Sonora, trabajando en colaboración con Sky Island Alliance y con la universidad. Los objetivos del proyecto son el monitoreo por todo el estado de Sonora de mariposa monarca (*Danaus plexippus*), así como el algodoncillo (*Asclepias spp.*) que es la planta de la que se alimenta, difusión por medio de educación ambiental a todos los niveles educativos, el último objetivo es la propagación de plantas nativas del estado de Sonora. Como resultados de 3 años de trabajo se ha llevado el taller a más de 5,000 personas de distintos niveles escolares. Se han registrado 101 mariposas monarca y 248 individuos de *Asclepias spp.* en el estado de Sonora con los cuales se creó un artículo científico con el Dr. Tomas Van Devender titulado "Monarcas en Sonora". Debido a los registros hemos podido concluir que existe una ruta migratoria por el estado debido a la región de las islas serranas que abarcan gran parte de Sonora, nuestro compromiso es verificar la ruta migratoria para así lograr proteger más áreas en Sonora y conservar la biodiversidad que existe en la región.

INTRODUCCIÓN

El estado de Sonora se encuentra ubicado en el noreste de México en la frontera con Estados Unidos. Tiene una extensión de 184 934 km², lo que lo hace el segundo más grande del país, y ocupa cerca del 9.2% del territorio nacional. Por su ubicación biogeográfica, Sonora se localiza en una zona de transición entre la región Neotropical y la región Neártica (Molina et al., 2010).

Una buena parte de su superficie está cubierta por matorrales desérticos, razón por la cual se le considera como una zona árida. Sin embargo, el sur del estado sustenta selvas caducifolias y la Sierra Madre Occidental posee bosques de pino-encino, lo que genera una diversidad ecosistémica considerable (Molina et al., 2010). Estas características hacen de Sonora un lugar con mucho potencial para encontrar a la Mariposa Monarca durante su ruta de migración hacia el sur de México. Por esta razón, se cree necesario llevar a cabo el proyecto en esta región mediante el monitoreo, el análisis de la propagación y la difusión sobre la Mariposa Monarca.

El monitoreo se realiza por estudiantes de la licenciatura en biología de la Universidad de Sonora en distintos sitios estratégicos del estado. Estos abarcan la región de las Islas Serranas, Bahía de Kino (Costa de Hermosillo); Área de Protección de Flora y Fauna Bavispe; Yécora; Reserva de la Biosfera El Pinacate y Gran desierto de Altar; Huachinera; Moctezuma; Cumpas; Agua Prieta; Fronteras; Álamos; Ures; Aconchi, carreteras y jardines dentro de la ciudad de Hermosillo, Sonora, México, entre otros.

La educación ambiental se lleva a cabo en escuelas de todos los niveles educativos y comunidades en general, para esto, se preparó un taller informativo sobre la identificación, biología, ecología, importancia, y las principales amenazas que presenta la Mariposa Monarca y algodoncillos de la región. El taller se adecua dependiendo del nivel académico y edad de las personas que están llevando este.

OBJETIVOS

Monitoreo de las poblaciones migratorias de Mariposa Monarca (*Danaus plexippus*) y de Algodoncillo (*Asclepias spp.*) en Sonora, México.

Propagación de plantas nativas por medio de jardines para polinizadores en diferentes sitios cercanos a la ciudad de Hermosillo Sonora, México.

Realizar actividades de difusión al público en general sobre el comportamiento y ubicación de la Mariposa Monarca (*Danaus plexippus*) y de Algodoncillo (*Asclepias spp.*) en Sonora.

PARTE EXPERIMENTAL

Los sitios de muestreo fueron seleccionados debido a sus condiciones favorables para la observación de mariposas, tales como la disponibilidad de agua, ya sea por medio de ríos, arroyos

o manantiales, también la presencia de plantas en floración así como un área donde puedan perchar y resguardarse.

Al llegar al sitio se hace un transecto de 5 kilómetros por la orilla del cuerpo de agua buscando la presencia de la mariposa o de su planta hospedera.

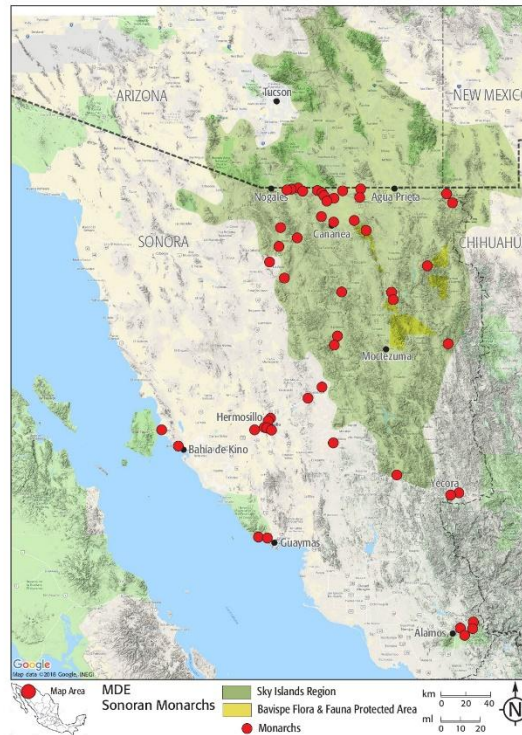
Registros Alianza Mariposa Monarca 2016-2017		
Lugar de monitoreo	Individuos de <i>Asclepias</i> spp.	Mariposas Monarca
2016		
Yecora, Sonora	3	0
Aconchi, Sonora	0	0
Cananea, Sonora	0	5
Reserva Ajos-Bavispe	18	0
Reserva Biosfera El Pinacate	8	8
Hermosillo, Sonora	15	38
El Gavilán	0	2
Caborca, Sonora	0	1
	44	54
2017		
Naco, Sonora	0	2
Los Fresnos, Sonora	0	2
Fronteras, Sonora	137	10
Yécora, Sonora	2	0
Reserva Biosfera El Pinacate	14	2
Hermosillo, Sonora	10	25
Moctezuma, Sonora	0	0
El Valle, Sonora	0	1
	163	37
Total	207	86

Tabla 1.- Registros de mariposa monarca y algodoncillo en los años 2016-2017 por el proyecto Alianza Mariposa Monarca

En el caso de observar mariposa monarca se registra por medio de una fotografía y con el formulario de la base de datos Monarca Nacional de CONANP donde se describe el sitio, si sólo hay presencia de plantas del género *Asclepias* se verifica si hay presencia de huevecillos o larvas de *D. plexippus*. Los datos se registran en la base de datos Monarca de CONANP, Naturalista de CONABIO y la base de datos de Madrean Discovery Expeditions.

Se imparten pláticas, talleres y mesas interactivas a todos los niveles educativos, así como al público en general acerca de la importancia de los polinizadores con énfasis en la mariposa monarca, donde también se les enseña a identificar a la mariposa de sus imitadores y el uso de la plataforma de Naturalista.

RESULTADOS



Mapa 1.- Registros de Mariposa Monarca (*Danaus plexippus*) en el estado de Sonora por MDE y Alianza Mariposa Monarca

Se registraron 86 mariposas monarca (*Danaus plexippus*) y 207 individuos del género *Asclepias* en 13 sitios de muestreo dentro del estado de Sonora, donde destacó la ciudad de Hermosillo con presencia de 63 mariposas en los años 2016-2017, siguiendo Fronteras, donde se registraron 10 mariposas y 137 individuos del género *Asclepias* en el año 2017.

Además del registro de estas dos especies, se enlistó la presencia de fauna y flora de las áreas a estudiar.

En el caso de la educación ambiental se han impartido las pláticas, talleres y mesas a más de 5,000 personas en el estado de Sonora y Arizona de Estados Unidos. Participando con distintas instituciones y organizaciones como; Sky Island Alliance, CONANP, Borderlands Restoration, Museo del Desierto Sonora-Arizona, Naturaleza y Cultura Internacional, Centro Ecológico de Sonora, entre otras.

CONCLUSIONES

El paso migratorio de la mariposa monarca por América se encuentra mayormente estudiado en los sitios donde pasa mayor tiempo ya sea su hibernación de invierno en el centro de México o su verano en el Sur de Canadá y Estados Unidos.

Dentro del fenómeno migratorio existen distintas rutas que toman las poblaciones, una de ellas cruza por el estado de Sonora colindando con Chihuahua, también se encuentra la población de California, EUA. la cual cumple su ruta viajando por la costa de Sonora.

El proyecto seguirá trabajando hasta comprobar científicamente el paso migratorio de la mariposa monarca por el estado, actualmente se encuentra trabajando con el Dr. Thomas Van Devender de

la misma manera se está trabajando con la creación de jardines para polinizadores dentro de la ciudad de Hermosillo con CEDES y la creación de un mariposario.

BIBLIOGRAFIA

1. MOLINA, F.E., VAN DEVENDER T.H. 2010. Diversidad Biológica de Sonora, Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal, México. pp. 13-15

USO DE HORMONAS EN EL SECTOR ACUÍCOLA Y SUS EFECTOS AL AMBIENTE: UNA REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Mariela González-Rentería, Araceli Cortes-García y Jesús Dámaso Bustamante-González

Universidad Autónoma Metropolitana–Xochimilco, Laboratorio de Genética, Reproducción y sanidad acuícola. Departamento el Hombre y su Ambiente. Calzada del Hueso 1100. Colonia Villa Quietud, Delegación Coyoacán. C.P. 04960. Ciudad de México. *biomarielagonzalez@gmail.com

RESUMEN

La acuicultura es el sector de producción de alimentos de origen animal con mayor crecimiento, provee cerca del 40% del pescado para la alimentación, sin embargo para la producción de peces principalmente se ha empleado el uso de hormonas, como en el caso de las tilapias para obtener cultivos monosexuales, machos que tengan un mayor crecimiento o modificar su época de reproducción. En esta revisión, se realizó una búsqueda extensiva para este análisis el incluye estudios de los últimos 10 años, de dos bases de datos (Science direct, Scopus) fueron utilizadas usando una plataforma en línea de la Biblioteca Ramón Villareal Pérez perteneciente a la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. El análisis nos indica que desde 1930 se han empleado diversos métodos basados en extractos crudos de hipófisis de peces maduros con altos niveles de GtH con el fin de inducir el desove, hoy son utilizados varios compuestos sintéticos de alta potencia de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRHa). Usualmente se emplean esteroides sintéticos, suministrados en el alimento o disueltos en el agua como en la salmonicultura, en tilapias se han empleado mibolerona y 17-metilandrosterona principalmente, con tratamientos prolongados de 5-6 semanas y ciclos constantes. Como conclusión hay evidencia de que su uso ha originado problemas de contaminación de cuerpos de agua, bioacumulación en tejido de los peces transfiriéndose a través del consumo, modificaciones de sexo en animales silvestres, alterando la proporción de sexos, siendo China y Bangladesh algunos de los principales países con problemas de contaminación.

Palabras clave: hormonas, contaminación, uso.

INTRODUCCIÓN

Hoy en día, existe evidencia científica sobre la contaminación de cuerpos acuáticos, gracias al uso de químicos, antibióticos, colorantes y hormonas esteroideas, entre otras. En el sector acuícola no es la excepción el uso de estas sustancias (Bartelt-Hunt *et al.*, 2011).

En la acuicultura, el rol de estas sustancias es intervenir en los mecanismos hormonales de la reproducción de teleósteos. Antes que todo, la región que tiene el rol fundamental es la glándula pituitaria y la hormona gonadotropina o hormonas que regulan la reproducción. Estas hormonas son secretadas antes de la hipófisis (hipotálamo, epífisis) y hormonas más allá de la hipófisis, cuya intervención es cierta o está en discusión (esteroides sexuales, hormonas del tejido interrenal y cromafín, cuerpo ultimobranquial y calcitonina, tiroideas, urofisis). También se mencionan las prostaglandinas. Se discuten el control endocrino del comportamiento reproductivo y la intervención de las feromonas en la reproducción de los teleósteos (Fontaine, 1976).

Por otro lado, se ha recomendado el uso de hormonas para la producción de poblaciones mono sexo lo cual favorece el crecimiento de las especies para la comercialización. Estas hormonas son suministradas a través el alimento, o en baños, de los cuales gran parte se pierde y difunde en el medio.

Principalmente se suplementan hormonas como la 17 α -Methyltestosterona, 11 β -hydroxyandrostenedion, 17 α -Ethiniltestosterona en la reversión sexual y el rendimiento de crecimiento de especies de interés comercial como la trucha arco iris, tilapia, entre otras (Atar, 2009). Estas hormonas (estrógenos, andrógenos), como las empleadas en medicina humana como anticonceptivos, modifican el comportamiento endocrino natural teniendo severas repercusiones a nivel medio ambiente, poblaciones naturales así como de salud humana en el consumo de productos con bioacumulación de hormona (Wedekind, 2014).

El objetivo de esta revisión fue dar un panorama sobre el estatus del uso de hormonas en el sector acuícola y lo trabajado a la fecha, retomando tópicos con su uso y la evidencia sobre los residuos en agua como en tejido de los organismos destinados para consumo humano.

MATERIAL Y METODOS

Investigación bibliográfica y recuperación

Se realizó una búsqueda extensiva para este análisis el incluye estudios de los últimos 10 años. Dos bases de datos (Science direct, Scopus) fueron utilizadas usando una plataforma en línea de la Biblioteca Ramón Villareal Pérez perteneciente a la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. Cada base de datos fue sometida a la búsqueda de artículos concernientes al verde de malaquita principalmente en tres categorías, 1) Hormonas en la acuicultura, 2) Riesgos de hormonas como contaminantes 3) Detección de hormonas en aguas.

Criterios de inclusión y exclusión

Los artículos recuperados se limitaron a aquellas publicaciones que cumplieron con las categorías antes mencionadas, en la que los artículos trataban temáticas dirigidas a la evaluación del uso y abuso de las hormonas en el sector acuícola, artículos de revisión y artículos científicas de screenigs en cuerpos acuáticos para su detección. Sólo se emplearon revistas originales y artículos publicados entre el año 2008 al 2018.

Estrategias de búsqueda

Tabla 1. Estrategias de búsqueda de información.

BASE DE DATOS	TIPO DE BÚSQUEDA	CATEGORÍA
SCIENCE DIRECT		USE OF HORMONES IN AQUACULTURE
SCOPUS	CONCEPTO	RISKS BY HORMONES AS POLLUTANTS DETECTION OF HORMONES IN WATERS.
	LUGAR DE LA PUBLICACIÓN U ORIGEN	TODO EL MUNDO
	LIMITES	2008-2018

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las últimas décadas, se ha incrementado el número de contaminantes ambientales, los cuales han sido encontrado que interrumpen el funcionamiento de sistemas endocrinos en la vida silvestre y los humanos (Sonnenschein and Soto, 1998).

Se ha observado que residuos de hormonas en las aguas residuales, genera la feminización de peces machos debido al etinilestradiol, un estrógeno sintético empleado como anticonceptivo (Sonnenschein and Soto, 1998). En este sentido, esta área no es la única que genera residuos de hormonas. El sector acuícola aporta grandes cantidades de hormonas esteroideas. Como lo reportan por Liu *et al* (2015), en el que se investigaron el uso de 24 tipos de esteroides que pasaron a la dieta humana mediante el consumo de alimentos provenientes de 6 centros de producción acuícola marina de la isla Hailing al sur de China. Aunque otros trabajos indican como referencia que los esteroides residuales estimados de $<5 \text{ ng g}^{-1}$ en pescado es demasiado bajo para ser un peligro para la salud humana (Pandian and Kirankumar, 2003).

Se detectaron 15 de 24 esteroides en concentraciones que van desde <0.1 (testosterona) a 40 ng L^{-1} (prednisolona), desde 0.1 (4-androstene-3,17-dione) a 2.4 ng g^{-1} (progesterona), de 0.3 ng g^{-1} (testosterona) a 21.4 ng g^{-1} (epi-androsterone), y de <0.1 (testosterona) a 560 ng g^{-1} (cortisol) (peso húmedo) en muestras de agua, sedimento, alimento y biota, respectivamente. Se detectaron esteroides sintéticos (androsta-1,4-dieno-3,17-diona, 17α -boldenona, 17β -boldenona, 17β -trembolona, prednisolona, norgestrel) en las muestras de alimentos, lo que demuestra claramente el uso ilegal de esteroides en productos dirigidos a la alimentación.

Por otro lado, Kolodziej (2004) detectaron esteroides endógenos estrona, testosterona y androstenediona en los canales y efluentes de tres criaderos de peces a concentraciones cercanas a 1 ng L^{-1} de California, E.U.A., entre muchos otros estudios. Por otro lado, de las tres categorías de búsqueda se halló una mayor cantidad de artículos relacionados con detección de hormonas en agua en comparación con uso de hormonas en la acuicultura y riesgo por hormonas como contaminantes.

Tabla 2. Resultados de artículos publicados en el periodo 2008-2018 de acuerdo a las tres categorías.

SCIENCE DIRECT				SCOPUS			
CATEGORÍAS				CATEGORÍAS			
AÑO	1	2	3	AÑO	1	2	3
2008	273	77	517	2008	32	36	50
2009	315	83	612	2009	42	30	56
2010	261	74	584	2010	49	38	53
2011	362	114	630	2011	47	47	68
2012	339	103	673	2012	47	51	63
2013	353	119	762	2013	66	41	87
2014	394	135	764	2014	59	43	59
2015	444	167	916	2015	61	63	77
2016	540	181	874	2016	90	73	91
2017	569	204	103	2017	99	56	100
2018	325	127	582	2018	30	23	28

CONCLUSIÓN

Con esta contribución se amplía el panorama dando la pauta a los investigadores a fines, sobre nuevas líneas investigación enfocadas al control y detección de este tipo de hormonas e identificar el origen con fines de regulación en la acuicultura enfocada a la producción de organismos para consumo u ornato. Tomando en cuenta los problemas de salud humana y animal, así como los problemas ecológicos producto de alteraciones a nivel endocrino y al el cambio de sexo de animales silvestres, mermando así sus poblaciones. Se propone realizar un análisis de conjunción de información para identificar la balanza, uso de hormonas para incrementar beneficios económicos o si es más importante preservar la salud de los ecosistemas acuáticos, de las especies naturales, la humana.

REFERENCIAS

1. Atar, H. H., Bekcan, S. and Dogankaya, L. (2009) 'Effects of Different Hormones on Sex Reversal of Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss* Walbaum) and Production of All-Female Populations', *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. Taylor & Francis, 23(4), pp. 1509–1514. doi: 10.2478/V10133-009-0002-X.
2. Bartelt-Hunt, S. *et al.* (2011) 'Occurrence of steroid hormones and antibiotics in shallow

- groundwater impacted by livestock waste control facilities', *Journal of Contaminant Hydrology*. Elsevier, 123(3–4), pp. 94–103. doi: 10.1016/J.JCONHYD.2010.12.010.
3. Fontaine, M. (1976) 'Hormones and the Control of Reproduction in Aquaculture', *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. NRC Research Press, 33(4), pp. 922–939. doi: 10.1139/f76-120.
 4. Kolodziej, E. P., Harter, T. and Sedlak, D. L. (2004) 'Dairy Wastewater, Aquaculture, and Spawning Fish as Sources of Steroid Hormones in the Aquatic Environment', *Environmental Science & Technology*. American Chemical Society, 38(23), pp. 6377–6384. doi: 10.1021/es049585d.
 5. Liu, S. *et al.* (2015) 'Steroids in marine aquaculture farms surrounding Hailing Island, South China: Occurrence, bioconcentration, and human dietary exposure', *Science of The Total Environment*. Elsevier, 502, pp. 400–407. doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2014.09.039.
 6. Pandian, T. J. and Kirankumar, S. (2003) 'Recent Advances in Hormonal Induction of Sex-Reversal in Fish', *Journal of Applied Aquaculture*. Taylor & Francis, 13(3–4), pp. 205–230. doi: 10.1300/J028v13n03_02.
 7. Sonnenschein, C. and Soto, A. M. (1998) 'An updated review of environmental estrogen and androgen mimics and antagonists¹', *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 65(1–6), pp. 143–150. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0960-0760\(98\)00027-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0960-0760(98)00027-2).
 8. Wedekind, C. (2014) 'Fish populations surviving estrogen pollution', *BMC Biology*. BioMed Central, 12, p. 10. doi: 10.1186/1741-7007-12-10.

APLICACIÓN DE ESPECTROMETRÍA MICRO RAMAN A LOS YACIMIENTOS DE MATERIAS PRIMAS DE USO ARQUEOLÓGICO.

Axel Jaime Olay Sánchez¹, Jannu Lira Alatorre¹, Ivonne S. Schönleber Riusech¹,
María Cristina Zorrilla Cangas².

¹Laboratorio de Análisis Lítico y experimentación. Litoteca, ENAH, litoteca@gmail.com,

²Laboratorio de Materiales Avanzados, IF-UNAM.

RESUMEN

La Arqueología es una disciplina privilegiada en cuanto a los análisis, ya que integra métodos cuantitativos y cualitativos mejorando nuestra comprensión del pasado. Es por ello, que se han establecido protocolos para el estudio de artefactos en colaboración con la Química y la Física.

La espectroscopía Raman ha sido utilizada de manera aislada por cientos de investigadores alrededor del mundo para el estudio de fármacos, nanopartículas, partículas cósmicas, orgánicas e inorgánicas —y más recientemente— al estudio de las rocas y minerales.

Este trabajo planteó el análisis y creación de una base de datos que ayude a los arqueólogos a conocer la composición físico-química de la obsidiana para encontrar patrones en los yacimientos de los que fueron extraídas en tiempos ancestrales y así determinar rutas de intercambio y comercio. Resultados:

Se realizaron los análisis con Espectroscopía Micro Raman y se obtuvo la información de los picos característicos de 19 localidades, de las cuales se obtuvieron 35 muestras, con esto se generó el primer banco de espectros que permite la comparación e identificación de especímenes tanto geológicos como arqueológicos, así como rutas de intercambio y comercio relacionadas a este material.

Conclusiones:

Con este estudio se elaboró un catálogo con las muestras procesadas a fin de que puedan ser usadas en análisis comparativos posteriores para identificar yacimientos, además de confirmar o replantear rutas de intercambio y comercio. Este tipo de análisis ha sido elegido por su rapidez y haber demostrado no poner en riesgo las piezas arqueológicas, haciendo el método más viable para el estudio de los materiales líticos más delicados.

INTRODUCCIÓN

La Arqueología es una disciplina privilegiada en cuanto a los análisis, pues integra métodos cuantitativos y cualitativos para generar información sobre los materiales arqueológicos, mejorando nuestra comprensión del pasado. Es por eso que se han establecido protocolos de colaboración con la química y la física, aplicándose a estudios arqueológicos. Si bien las técnicas que hemos empleado no fueron ideadas para el manejo de piezas arqueológicas, han sido muy útiles para plantear y replantear los ideales quasi-dogmáticos que existen en nuestro quehacer. Este es el caso de la espectroscopía Raman, la cual se ha utilizado por cientos de investigadores alrededor del mundo para el estudio de fármacos, nanopartículas, partículas cósmicas, orgánicas e inorgánicas incluyendo las rocas y minerales [1]

Ejemplos de estos estudios son los realizados en los programas: CONACyT 131944, PAPIT UNAM IN402813, IF-UNAM y MÓVILII, IF- UNAM. [2, p. 32]. El estudio de la espectrografía Raman se ha empleado en la caracterización de diversos minerales por parte del equipo de Templo Mayor; hablamos del Dr. Emiliano Melgar Tisoc, quien logró formar una base de datos de turquesas y actualmente se encuentra trabajando jadeítas del valle del Motagua —Guatemala— para compararlas con las pertenecientes a la colección del Museo del Templo Mayor (Melgar Tisoc, 2016: Com. Pers.) [3, p. 69].

Este tipo de análisis ha sido elegido no solo por su rapidez, sino por haber demostrado no poner en riesgo las piezas arqueológicas, lo que lo hace el método más viable para el estudio de los materiales líticos más delicados [4, p. 3]. Por ello, la presente investigación planteó el análisis y creación de una base de datos que ayudará a los arqueólogos a conocer la composición físico-química de la obsidiana para encontrar patrones en los yacimientos que fueron explotados en la antigüedad.

La importancia de realizar este tipo de estudios

Los arqueólogos, tienen problemas para saber de dónde provienen los materiales con los que fueron elaborados los artefactos o instrumentos del pasado. Definir los yacimientos pensando que las características observables como el color o la textura son suficientes para distinguir la fuente del material [5], se convierten en conjeturas que califican la tonalidad y bandeo en un análisis "tipo-variedad"; no subestimamos la capacidad de los más experimentados, sino que intentamos tener valores certificados para su distinción y comparación. Por lo tanto, si se pueden diferenciar las características de la obsidiana y con ello conocer su huella espectral a partir de la Espectroscopía Micro Raman, entonces podremos caracterizar, así como diferenciar los yacimientos de obsidiana en la región geológica a la que pertenezcan.

Con esta investigación construimos un banco de datos para la comparación de materiales vítreos volcánicos con lo que, los arqueólogos y otros investigadores puedan establecer los sitios de origen de la obsidiana. Además, facilitará la comparación de resultados para establecer las rutas comerciales usadas en el México prehispánico dando pie a futuras investigaciones.

En resumen, con esta información se generaron referencias que proporcionan datos sobre la procedencia de artefactos elaborados sobre obsidiana en México y Guatemala mediante el análisis de espectros que permiten la comparación de yacimientos de una forma viable [6] [7]

Los resultados de este trabajo son comparables, pues la configuración geológica de los minerales y rocas —que es compleja— así lo debe permitir, dado lo cual, a través de este diagnóstico se obtienen patrones de comportamiento de los componentes de la obsidiana. La identificación de muestras "a ojo" no es confiable al existir diversas fuentes de material con características físicas macroscópicas similares, es por eso que se propone un método que tenga altos niveles de confiabilidad al poder repetirse, obteniendo los mismos resultados en laboratorio independientemente del sitio donde se realicen (Lira, Melgar y López, 2016: Com. Pers.).

El trabajo ayudó a establecer parámetros y protocolos de manejo de piezas, pues buscó procedimientos de análisis que ayuden al estudio de datos arqueológicos de una manera más rápida. Los espectros obtenidos de las muestras de los yacimientos que forman parte del Catálogo de Muestras geológicas del Laboratorio de Análisis Lítico y Experimentación. Litoteca, al ser examinados a través de la Espectroscopía Micro Raman ayudarán a identificar las muestras arqueológicas por sus componentes químicos.

MARCO CONCEPTUAL

Espectroscopia Raman

La espectroscopia surgió con el estudio de la interacción entre la radiación y la materia como función de la longitud de onda (λ) y la respuesta es un gráfico conocido como espectro. La espectroscopía Raman es una técnica fotónica de caracterización de materiales.

El análisis por espectroscopía Raman se basa en la medición de la luz dispersada por un material sobre el cual se hace incidir un haz monocromático. La luz dispersada presenta cambios en la longitud de onda respecto al haz incidente dependiendo de la estructura química de la muestra (modos vibracionales, rotacionales y otros de baja frecuencia del material).

La diferencia de energía entre los fotones incidentes y los dispersados se analiza con un espectrómetro para generar el espectro Raman, el cual es único para cada tipo compuesto por lo tanto se convierte en una "huella digital" para identificarlo. [8]

Se puede analizar la composición química y estructural de compuestos orgánicos e inorgánicos sin destruir la muestra y sin una preparación especial por lo tanto no altera ni destruye la muestra. Se analizan tanto sólidos como líquidos.

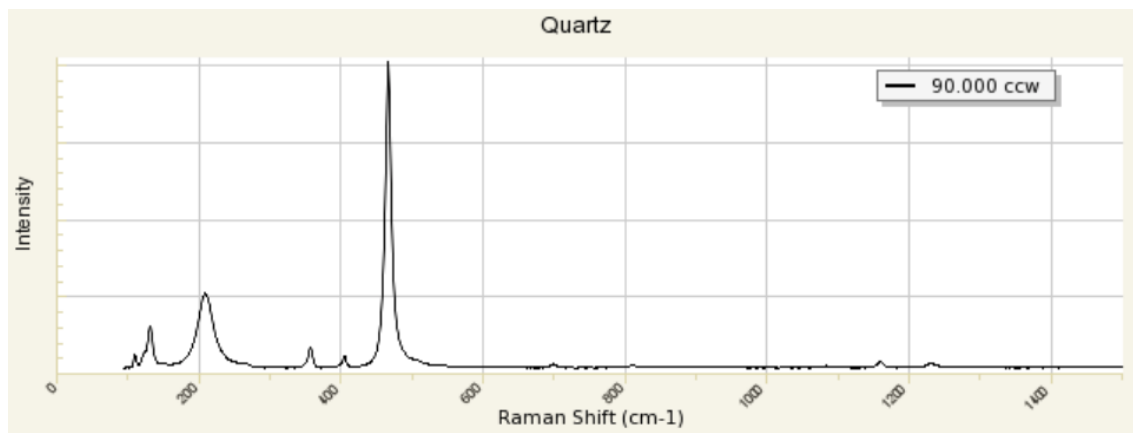
Por ser tan determinante y rápida la espectroscopia Raman se ha convertido en un método de caracterización cada vez más utilizado en las diversas áreas de la ciencia tanto de materiales como biológicas entre ellas Física, Química, Biología, Medicina, Odontología, Bioingeniería, Biomedicina, Ingeniería, Forense, Farmacéutica, Obras de arte, Arqueología, Antropología Geología, Mineralogía, Ambiental y muchas más

Raman

Un espectro Raman se obtiene a partir de la colisión inelástica entre luz monocromática incidente y las moléculas de la muestra. Cuando un haz de luz monocromática incide en la muestra, los fotones provocan que la energía de la molécula se eleve a un estado por arriba del nivel basal.

Inmediatamente la mayoría de las moléculas regresan a dicho estado basal mediante la emisión de un fotón de la misma longitud de onda que aquella del fotón incidente. Este proceso de dispersión elástica en el que el fotón de entrada y el de salida poseen la misma longitud de onda se conoce como dispersión Rayleigh. Sin embargo, una pequeña cantidad de fotones sale con menor longitud de onda que la del fotón incidente, es decir, ocurre una dispersión inelástica. Cuando los fotones tienen una longitud de onda menor que los fotones incidentes el fenómeno es conocido como dispersión Raman de Stokes. Por otro lado, si los fotones poseen una mayor energía la dispersión es llamada de anti-Stokes. En comparación con la dispersión de Rayleigh, la dispersión Raman es un efecto muy débil, menor en unos 3 a 5 órdenes de magnitud.

El espectro presenta la intensidad *versus* la longitud de onda. Los picos en el espectro Raman corresponden a los modos vibratorios de la molécula. [9]



Espectro Raman de cuarzo (SiO₂) [10]

Arqueología y Geología

Es cierto que existen muchos trabajos que hablan sobre la región cultural mesoamericana [11], aunque sea mal, empero nunca se ha planteado la necesidad de hablar sobre la Pan-región Mesoamericana.

Si bien las culturas se establecieron a lo largo y ancho del territorio mexicano, las regiones geológicas sobre las que florecieron las antiguas civilizaciones poseían características diferentes, por lo cual hay que decir que Mesoamérica, además de pluricultural es Pan-regional, ya que las características del subsuelo son completamente distintas en cada asentamiento.

Es por lo que definimos Pan-región Mesoamericana como el territorio que conjunta las diferentes regiones geológicas donde se encuentran los yacimientos de obsidiana en México y Guatemala, con capas que presentaron vulcanismo de tipo ácido generalmente con domos volcánicos de tipo riolítico.

Sobre el yacimiento

En la antigüedad existieron sitios de aprovisionamiento de materiales pétreos, que los arqueólogos no conocemos, así como fuentes de material que nunca fueron explotadas por los pobladores ancestrales, lo que nos lleva a pensar ¿qué diferencia existe entre una fuente de material y un yacimiento?

La fuente de material se entiende como un depósito de rocas o minerales que requieren de una conjunción de factores geológicos para su génesis. Se pueden apreciar diferencias en su cristalografía debido a sus condiciones geológicas y químicas de formación [12, p. 37 y 39] [13, pp. 53-54]; sin embargo, como objeto de trabajo nunca fue aprovechado por las sociedades arqueológicas.

Algunos investigadores apuntan que el yacimiento se entiende como el lugar donde han sido encontrados vestigios de actividades de aprovisionamiento de una materia prima con características singulares [14, p. 31]. En el caso de la lítica y puntualmente la obsidiana, mediante recolección, explotación a cielo abierto y/o minado subterráneo [15, pp. 7-8] y que está dirigida a abastecer actividades productivas, de intercambio, militares, religiosas y de estatus. [16, p. 22].

Otra definición es el Yacimiento como aquella acumulación de material consolidado o no, que ha sido depositado por algún proceso natural, el cual, siempre debe tener un rendimiento de carácter cultural; es decir, depende de la tecnología necesaria para su extracción.

A partir de esto consideramos como yacimiento a las diferentes áreas de extracción y afloramiento de rocas y minerales donde se llevan a cabo las actividades propias del abastecimiento de la materia prima, así como su selección, aplicando las diversas técnicas mineras con la finalidad de satisfacer las necesidades del grupo [17] [18].

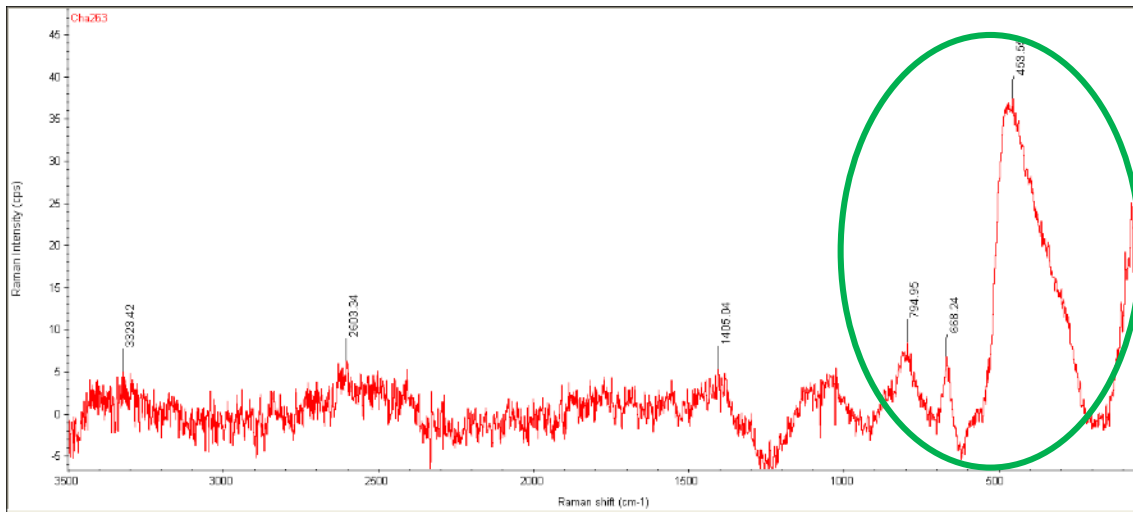
Metodologías, protocolos y formalidades para el análisis:

1. Se extrajeron 2 lascas de obsidiana de cada una de las fuentes:
 - a. Abasolo, Guanajuato.
 - b. Atopixco, Zacualtipán de Ángeles, Hidalgo.
 - c. Carretera Tuxpan, Veracruz –Tulancingo, Hidalgo.
 - d. El Chayal, Guatemala
 - e. El Pachay norte, San Martín Jilotepeque, Guatemala
 - f. Guadalajara, Jalisco.
 - g. La Esperanza, Querétaro.
 - h. La Joya, Guadalajara.
 - i. Mal País, Ixtepeque, Guatemala.
 - j. Oaxaca
 - k. Otumba, Estado de México
 - l. Paredón, Puebla/Hidalgo
 - m. Pico de Orizaba, Puebla/Veracruz
 - n. Sierra de Guadalupe Victoria, Puebla
 - o. Sierra de las Navajas, Hidalgo
 - p. Zacualtipán, Hidalgo
 - q. Zinapécuaro-Ucareo Michoacán
 - r. Tres cabezas
 - s. Un mundo de obsidiana (Tulancingo)
2. Preparación de materiales para las pruebas de espectroscopía para que no sean contaminadas por agentes externos.
 - a. Limpieza con una solución de agua-alcohol 1:1
 - b. Sujeción de la muestra a portaobjetos
 - c. Almacenamiento y transporte de muestras en condiciones selladas
3. Obtención de espectros Raman.

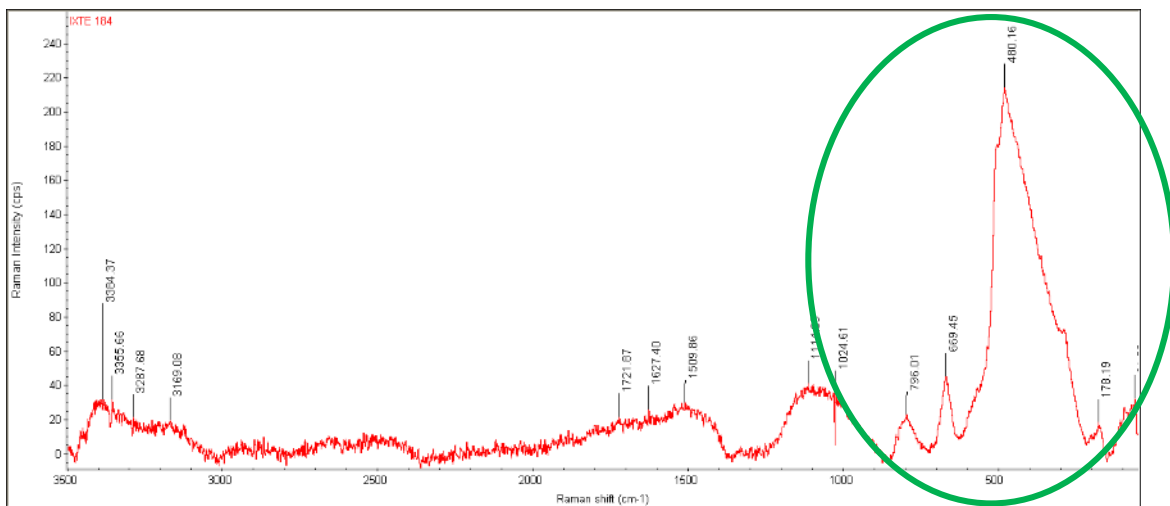
Para la obtención de los espectros de las muestras de obsidianas seleccionadas, se utilizó un Equipo DRX Raman Microscope Thermo Scientific, con un láser de 532 nm y objetivo de 10X y 50x.

Los parámetros utilizados en la adquisición fueron 7 mW, apertura de 25 mm, con tiempos de 10 segundos.
4. Registro y sistematización de las muestras y los espectros en cédulas para que sean comparables y fáciles de leer en campo
5. Conformación del Catálogo de Muestras de Obsidiana Analizadas por Espectroscopía Micro Raman para que los datos y las muestras estén a disposición del público en general en caso de necesitar una revisión de datos.

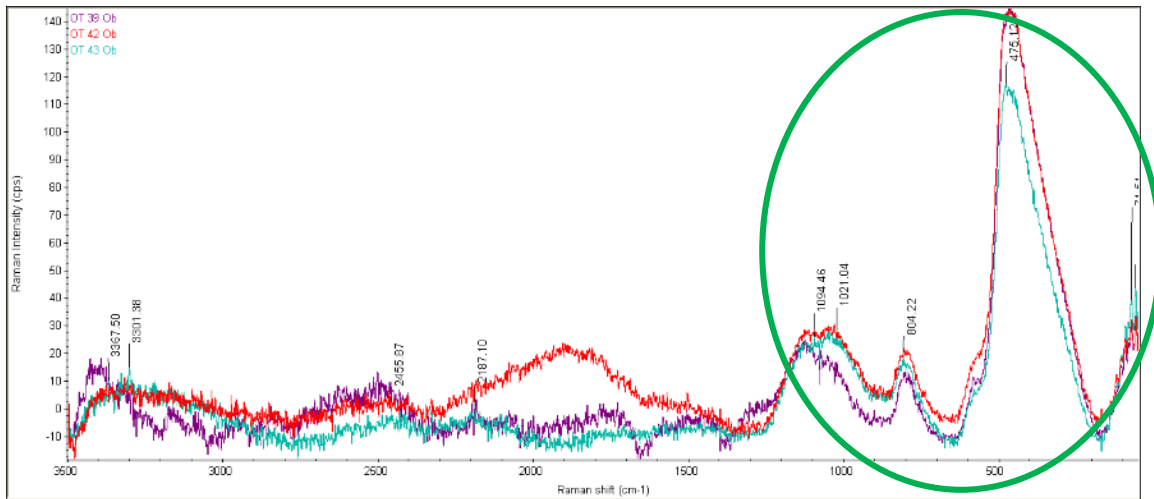
RESULTADOS



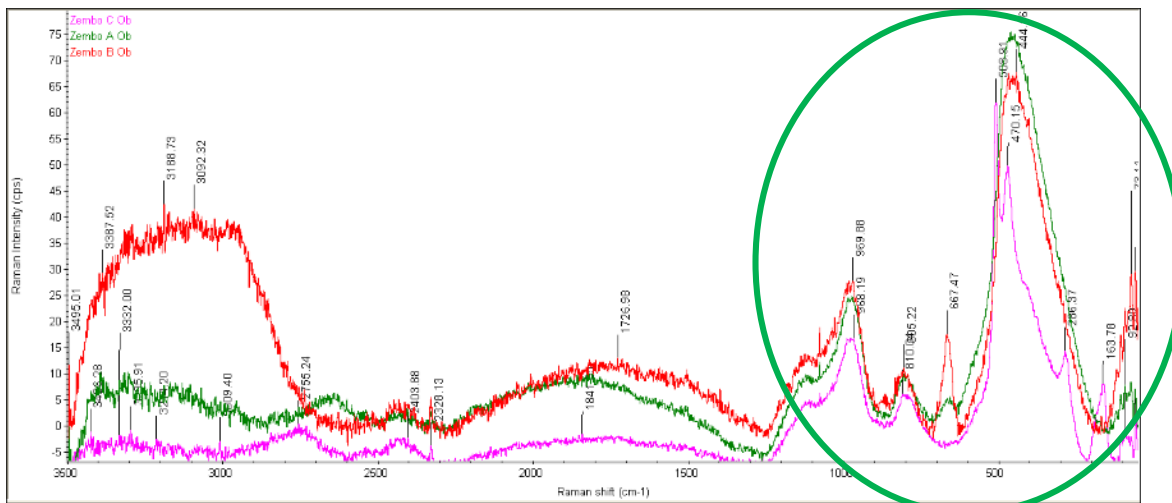
El Chayal, Guatemala, en este espectro se observan picos que personalizan los diversos grupos funcionales que presentan baja intensidad; además, la cresta principal que corresponde a los vidrios [19].



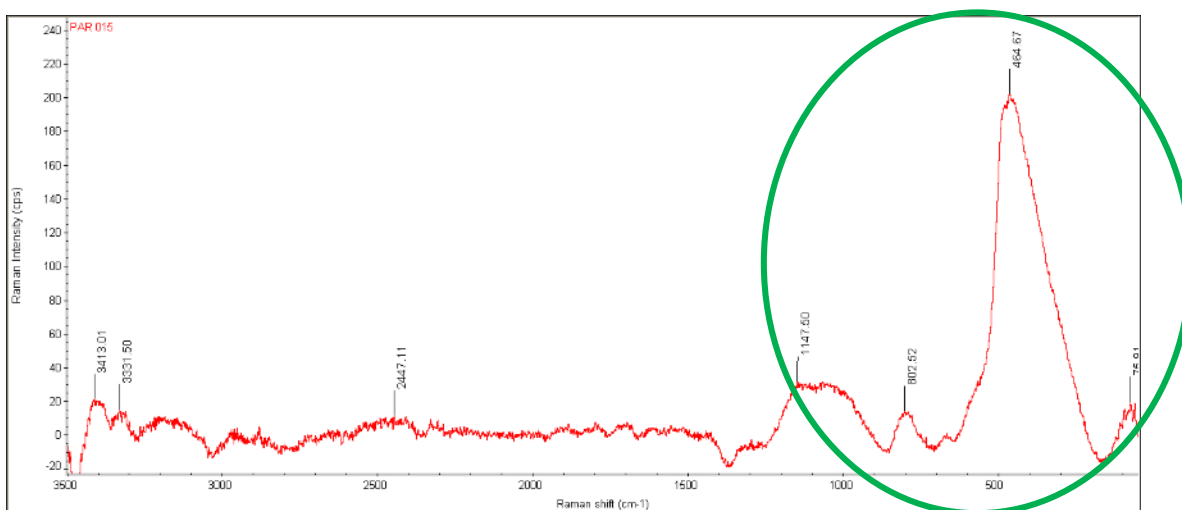
Ixtepeque, Guatemala; en esta lámina la línea del espectro se observa más nítida, cabe resaltar que entre los 600 y los 1200 cm^{-1} se encuentran los grupos funcionales con los que es posible diferenciar este yacimiento.



Superposición de espectros correspondientes a diferentes muestras obtenidas del yacimiento de Otumba, Edo. Méx. México. Se observan los grupos funcionales que caracterizan y diferencian al yacimiento. Además, se pueden determinar que los picos presentan recurrencia en cuanto a la observación de los puntos máximos alcanzados por la intensidad Raman.



Superposición de los espectros de Sierra de las Navajas de la Localidad del Zembo, Hgo. México; se puede observar que las muestras Zembo A y Zembo B se corresponden en cuanto al grupo funcional correspondiente a los vidrios, ubicado en el punto más alto de la intensidad. Además, se puede diferenciar de la muestra Zembo C por sus picos primarios, empero manteniendo el patrón entre 700 y 1200 cm⁻¹, por lo que se puede asegurar sin previo conocimiento que pertenecen al mismo yacimiento. (Las muestras fueron recolectadas por los autores).



Yacimiento del Paredón, Hidalgo-Puebla, México. Podemos determinar 4 puntos como recurrentes en las muestras analizadas, dichos picos se encuentran entre los 1200 y 0 de la longitud de onda Raman

CONCLUSIONES

Se establecieron los parámetros de comparación entre obsidias para diferenciar los yacimientos a través de sus características físico-químicas y definir las características de las muestras procesadas por yacimiento.

Además, se ubicó geográficamente el yacimiento de donde se obtuvo la muestra analizada y se elaboró una cédula para registro de la frecuencia de toma y tiempo de exposición, así como, el registro del espectro y el análisis de resultados.

Con esto se construyó una base de datos que permite a los investigadores e interesados, comparar los resultados del análisis de Espectroscopía Raman de las muestras geológicas contra las arqueológicas.

BIBLIOGRAFÍA

1. J. L. Pérez, R. Murillo y G. Raúl, «Espectroscopías infrarroja y Raman,» S.A.. [En línea]. Available: <http://sistemas.fciencias.unam.mx/~fam/EsRaman.pdf>. [Último acceso: 08 11 2016].
2. Filloy Nadal, «El jade en Mesoamérica,» *Arqueología Mexicana*, vol. 23, n° 133, pp. 30-36, Mayo-junio 2015.
3. R. Melgar Tisoc, «La turquesa en el templo mayor de Tenochtitlan: Piedras de fuego y emblemas de poder,» *Arqueología Mexicana*, vol. 24, n° 141, pp. 68-73, septiembre-octubre 2016.
4. Gutiérrez Cano y J. Otero, «Espectroscopía Raman: fundamento y aplicaciones,» Universidad de Edinburgo, Londres, 2015.
5. H. Cobean, «Caracterización de alta precisión de elementos traza de los grandes yacimientos de obsidiana y análisis de artefactos de San Lorenzo Tenochtitlan,» *Latin American Antiquity*, vol. 2, n° 1, pp. 69-91, 1991.
6. H. Cobean, «Principales yacimientos de obsidiana en el Altiplano Central,» *Arqueología*, n° 5, pp. 9-31, 1991.
7. H. Cobean, *Un Mundo de Obsidiana*, México: INAH- University of Pittsburgh, 2002.
8. Cotton, L. Darlington y L. Lynch, *Química, una introducción a la investigación*, México: Publicaciones cultural S.A., 1976.
9. Chalmers y G. P.R., *Handbook of vibrational Spectroscopy*, Wiley, 2002.

10. Downs, «Rruff,» 2007. [En línea]. Available: <http://rruff.info/quartz/display=default/R040031>. [Último acceso: 13 abril 2018].
11. Kirchhoff, «Mesoamérica, sus límites geográficos, composición étnica y caracteres culturales,» *Tlatoani*, pp. 1-3, 1960.
12. Sánchez Hernández, «La geología del jade mesoamericano,» *Arqueología Mexicana*, pp. 37-41, 2015.
13. M. L. Ridinger, «El jade,» *Arqueología Mexicana: Rocas y minerales del México antiguo*, n° 27, pp. 52-59, Septiembre-Octubre 1997.
14. C. Weigand, «La turquesa,» *Arqueología Mexicana*, vol. 5, n° 27, pp. 26-33, Septiembre-octubre 1997.
15. Langenscheidt, «La minería en el área mesoamericana,» *Arqueología Mexicana*, vol. V, n° 27, pp. 7-9, Septiembre-octubre 1997.
16. .Pastrana, La explotación Azteca de la obsidiana en Sierra de las Navajas, primera edición ed., México: Instituto Nacional de Antropología e Historia, 1998, p. 283.
17. S. Schönleber Riusech y J. Lira Alatorre, Dirección, *La Minería de la Obsidiana actual y Prehispánica de la Sierra de las Navajas, Hidalgo*. [Película]. México: Flintworking Productions, 2007.
18. Lira Alatorre y I. Schönleber Riusech, La minería de Sierra de las Navajas, Ciudad de México: SEP-ENAH, 2007.
19. .J. Karr, *Infrared and Raman Spectroscopy of Lunar and Terrestrial Minerals*, New York: Academic Press, INC., 1975.

METABOLITOS SECUNDARIOS DE CACTÁCEAS GLOBOSAS CON ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA EN BIOPELÍCULAS DE INTERÉS MÉDICO

Rocío Sanchez-Herrera¹, Lérica Liss Flores-Villavicencio², Sofía Loza-Cornejo¹, Julio Cesar Villagómez-Castro², Juan Luis Pichardo-Molina³, Xóchitl Aparicio-Fernández¹

¹Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara

²Departamento de Biología, DCNE campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato

³Centro de Investigaciones en Óptica A.C. León, Guanajuato

RESUMEN

Las micosis son un problema de salud mundial que afecta la calidad de vida de los pacientes infectados, incrementando su importancia porque muchas de ellas han generado resistencia a los antimicóticos. La familia Cactaceae produce metabolitos secundarios que alteran actividades bioquímicas y celulares en microorganismos. La bioprospección contribuye al mejoramiento de una terapia farmacológica, y en nuestro caso, basada en el uso de cactáceas. El objetivo de la investigación fue probar la actividad antifúngica de *Stenocactus multcostatus*, *Coryphantha cornifera* y *Mammillaria uncinata*, sobre biopelículas maduras de hongos patógenos de humano: *C. albicans*, *C. glabrata* y *S. schenckii*. Las cactáceas fueron colectadas en la región Altos Norte de Jalisco y con ellas se prepararon extractos acuosos, por decocción, a los cuales se realizó el análisis del perfil fitoquímico, el análisis espectroscópico por infrarrojo (FTIR) y la determinación de su actividad antifúngica mediante el ensayo XTT. Los resultados se analizaron mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (* $p \leq 0.05$, $n=9$). El perfil fitoquímico y el FTIR mostraron la presencia de alcaloides, flavonoides y saponinas en las cactáceas. Asimismo, los extractos acuosos de *S. multcostatus* y *C. cornifera* disminuyeron la actividad metabólica de *C. albicans* un 65% y 59%; mientras que en *C. glabrata*, la disminución alcanzó el 71% y 49%; respectivamente. En *S. schenckii* los extractos de *S. multcostatus* y *C. cornifera* disminuyeron la actividad un 64% y 50%, respectivamente. La biomasa fúngica también se vio disminuida por efecto de los extractos de cactáceas. En conclusión, los extractos acuosos de las cactáceas globosas, *S. multcostatus* y *C. cornifera*, presentaron actividad antifúngica frente a biopelículas de *C. albicans*, *C. glabrata* y *S. schenckii*.

INTRODUCCIÓN

Los hongos constituyen una parte importante de la biodiversidad, se conocen alrededor de 100.000 especies de los cuales 400 especies son patógenas de animales y plantas [1]. La ocurrencia mundial de infecciones fúngicas se ha incrementado dramáticamente en los últimos 20 años, principalmente entre individuos inmunocomprometidos, como pacientes con trasplantes de órganos, cáncer y diabetes mellitus donde se producen graves micosis invasivas [2,3].

Las micosis superficiales (que afectan la piel y las mucosas) se encuentran entre las formas más frecuentes de infecciones humanas y pueden presentarse en individuos sanos; se estima que afecta a más del 20-25% de la población mundial [3,4]. Específicamente, los dermatofitos son la causa más común de infecciones en la piel debido a sus factores de virulencia, como la capacidad de adherirse e invadir tejidos queratinizados [5]. En la última década, las especies de *Candida* causantes de infecciones nosocomiales se han establecido como uno de los agentes más frecuentes.

Candida albicans es parte del microbioma humano, pero en personas susceptibles puede causar infecciones superficiales o sistémicas. Factores de virulencia de este hongo oportunista incluyen: su capacidad de adhesión al hospedero, la secreción de proteasas y la formación de biopelículas [5].

Actualmente, los fármacos antifúngicos se basan en tres estructuras químicas: polienos (anfotericina B), azoles (imidazoles, fluconazol, itraconazol, voriconazol y posaconazol) y equinocandinas [6,7]; el isavuconazol ha sido descrito como un nuevo triazol de amplio espectro [8,9]. Estos fármacos, muestran varias limitaciones para su uso al producir reacciones adversas en los pacientes; por ejemplo, la anfotericina B que fue durante 30 años el único fármaco antifúngico efectivo, presenta como efecto adverso su nefrotoxicidad [3]. Otras complicaciones son la resistencia fúngica a la terapia farmacológica de los hongos, las interacciones fármaco-fármaco y el mecanismo de acción fungistático, pero no fungicida.

Por lo anterior, existe una necesidad de desarrollar técnicas de bioprospección terapéutica en torno al desarrollo de nuevos antifúngicos con un amplio espectro y con menos efectos secundarios que

limiten la dosis [10,11]. En este sentido, las cactáceas representan una de las familias de angiospermas más conspicuas y diversas de regiones áridas y semi-áridas de América con aproximadamente 1500 especies de cactáceas y cerca de 100 géneros. México es el país con el mayor número de especies de cactáceas donde figuran 52 géneros, que representan 47% de los géneros reconocidos para la familia; a nivel de especies se reportan 850 en estado silvestre, que corresponden al 42% de todas las especies [12,13].

Adicionalmente, numerosas especies de cactáceas, pertenecientes a distintos géneros, tienen diferentes usos en todo el mundo, y son cada vez más apreciados por sus beneficios para la salud [14,15,16]. Las cactáceas han atraído atención especial debido a su peculiar biología; son abundantes, presentan gran diversidad y tienen capacidad de prosperar en condiciones ambientales que producen desafíos fisiológicos significativos a través de las estaciones [17]. La capacidad para desarrollarse con éxito en desiertos y climas subtropicales en todo el mundo [18] es posible debido al desarrollo de adaptaciones anatómicas, como un cuerpo suculento espinoso (tejido de almacenamiento de agua) con una epidermis resistente al agua que está cubierta por una cutícula cerosa [14,15,19]. La familia Cactaceae es una fuente de metabolitos secundarios como alcaloides, carotenoides, betalainas, triterpenos y esteroides [20, 21, 22]; por ello las convierte en fuentes naturales de la herbolaria tradicional para el tratamiento de leishmaniasis, malaria, esquistosomiasis, infecciones fúngicas y bacterianas [2]. Debido a lo anterior, el objetivo de esta investigación es analizar la actividad antifúngica de *Stenocactus multicosatus*, *Coryphantha cornifera* y *Mammillaria uncinata*, sobre biopelículas maduras de hongos patógenos de humano como *Candida albicans*, *Candida glabrata* y *Sporothrix schenckii*.

PARTE EXPERIMENTAL

Recolección de las cactáceas y obtención del extracto acuoso

Las cactáceas fueron colectadas en los meses de mayo-junio del 2017, en la región Altos Norte de Jalisco. *Coryphantha cornifera*: La presa "El Cuarenta" (latitud 21.534218, -101.681084), municipio de Lagos de Moreno, Jalisco. *Mammillaria uncinata* y *Stenocactus multicosatus*: Comunidad de "La Rosa" (latitud 21.21408; longitud -101.783218), municipio de Unión de San Antonio, Jalisco.

Una vez colectadas las especies, se realizó un pretratamiento el cual consistió en una limpieza profunda para eliminar la tierra, tricomas y material extraño. Las cactáceas fueron seccionadas en cubos de aproximadamente 1 cm³ y se colocaron en un deshidratador solar (60 x 50, cm). Posteriormente, se prepararon extractos acuosos por el método de decocción (10 g de muestra deshidratada en 100 mL de H₂O destilada a reflujo por 20 min a 80°C), posteriormente se esterilizó por filtración (0.45 µm). A los extractos acuosos, se les realizó el análisis del perfil fitoquímico (alcaloides, esteroides (triterpenos), flavonoides, taninos, quinonas y saponinas) como a continuación se describe.

Determinación del perfil fitoquímico y FTIR

La presencia de alcaloides se determinó de acuerdo con Domínguez [23]. 10 mL de cada extracto se evaporaron; el residuo se mezcló con 5.0 mL de HCl al 10%. Después de 10 min de calentamiento en una placa, cada mezcla se filtró a temperatura ambiente y se dividió en cuatro tubos de ensayo. Los extractos en los tubos se trataron con 0.25 mL de los reactivos de Dragendorff, Mayer, Warner y Hager. La turbidez o la precipitación se tomaron en al menos tres de los cuatro reactivos, se tomaron como evidencia de la presencia de alcaloides. La presencia de esteroides (triterpenos) se determinó siguiendo el método descrito por Tecanhuey [24], utilizando los reactivos de Libermann-Burchard y Salkowski, éstos fueron añadidos a cada uno de los extractos disueltos en cloroformo. La prueba se consideró positiva cuando se presentaron colores azul, púrpura, rojo o verde en la reacción de Libermann-Burchard y; marrón o rojizo en el reactivo de Salkowski. La identificación de flavonoides se realizó utilizando dos metodologías de acuerdo con Domínguez [23] y Tecanhuey [24]. En la primera prueba, los flavonoides se detectaron por la presencia de color rojizo a marrón en el extracto después de la adición de polvo de zinc y 0.25 mL de HCl 5N. En la segunda reacción, se añadieron 0.25 mL de NaOH acuoso a 5.0 mL de cada extracto en un tubo de ensayo, el aspecto de color amarillo a naranja-ocre se consideró indicativo de la presencia de flavonoides.

Para la detección de taninos, 10 mL del extracto se evaporaron a sequedad y se recogieron en agua, se filtraron y se dividieron en cuatro tubos de ensayo. Se añadieron 0.25 mL de solución de FeCl₃ al 10% al tubo uno, se tomó un color azul-negro o verde como evidencia de la presencia de taninos

[24]. La presencia de taninos se confirmó por la formación de precipitado en el extracto cuando los tubos dos y tres se trataron con solución de gelatina al 1% y solución de gelatina al 1% en NaCl al 1%, sin observar precipitación en el tubo cuatro, al que se le añadió una solución de NaCl al 1%. Para la identificación de quinonas, se mezclaron 5.0 mL de cada extracto con 1.0 mL de H₂O₂ al 20% y 1.0 mL de H₂SO₄ al 50%; se calentó durante 15 minutos y posteriormente se enfrió a temperatura ambiente, se añadieron 5.0 mL de tolueno y se mezclaron vigorosamente. Se mezclaron 2 mL de la fase de tolueno con 1.0 mL de NaOH al 5% y NH₃ al 2%; la mezcla se agitó y se observó: la reacción se consideró positiva cuando la fase acuosa se volvió de color rosa a rojo [23]. Las saponinas se determinaron mediante dos pruebas [23, 24], los extractos se evaporaron a sequedad y se disolvieron con agua caliente. La aparición de espuma que permaneció constante durante 20 min. después de la agitación manual del extracto acuoso, se tomó como evidencia de la presencia de saponinas. Para la reacción de Rosenthaler se evaporaron 5.0 mL de cada extracto a sequedad y se añadió 0.1 mL de reactivo de Rosenthaler y 0.1 mL de H₂SO₄. La apariencia de color violeta se consideró como un indicativo de la presencia de saponinas.

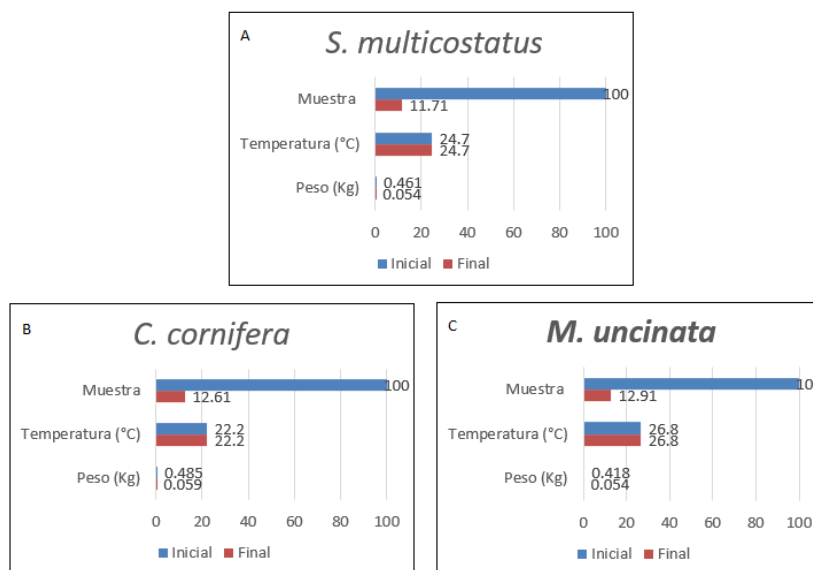
Adicionalmente, se realizó espectroscopia de Infrarrojo Transformada de Fourier (FTIR) donde se consideraron 20 promedios de tres muestras resultando un total de 60 espectros para cada uno de los extractos.

Determinación de la actividad antifúngica de los extractos acuosos de cactáceas globosas

La formación de biopelículas maduras de *Candida* y *S. schenckii* se realizó de acuerdo a Silva y col. (2009) y Sánchez Herrera y col. (2014) respectivamente [25, 26]. La actividad antifúngica de los extractos acuosos en las biopelículas maduras se determinó mediante los ensayos de actividad metabólica mitocondrial con el ensayo de XTT y midiendo la biomasa celular por la tinción con cristal violeta. El análisis estadístico de los resultados se realizó con el programa Statistica 7. Se efectuó una prueba de normalidad de los datos. A los que siguieron una distribución normal se aplicó un Modelo Lineal General (ANOVA) y a los datos no paramétricos se les efectuó la prueba de comparación independiente múltiple de Kruskal-Wallis (*p≤0.05, n=9).

RESULTADOS

Tras su deshidratación, los pesos obtenidos de las cactáceas (Gráfica 1) fueron de 0.054 Kg para *S. multcostatus*, 0.059 Kg para *C. cornifera* y 0.054 Kg para *M. uncinata*. El promedio de la temperatura de secado se registró en aproximadamente 25 °C, obteniéndose la pérdida de hasta el 98 % de humedad.



Gráfica 1. Valores iniciales y finales (30.00%-88.29%) de la deshidratación de las muestras en un deshidratador solar. Panel A. *Stenocactus multcostatus*. Panel B. *Coryphantha cornifera*. Panel C. *Mammillaria uncinata*

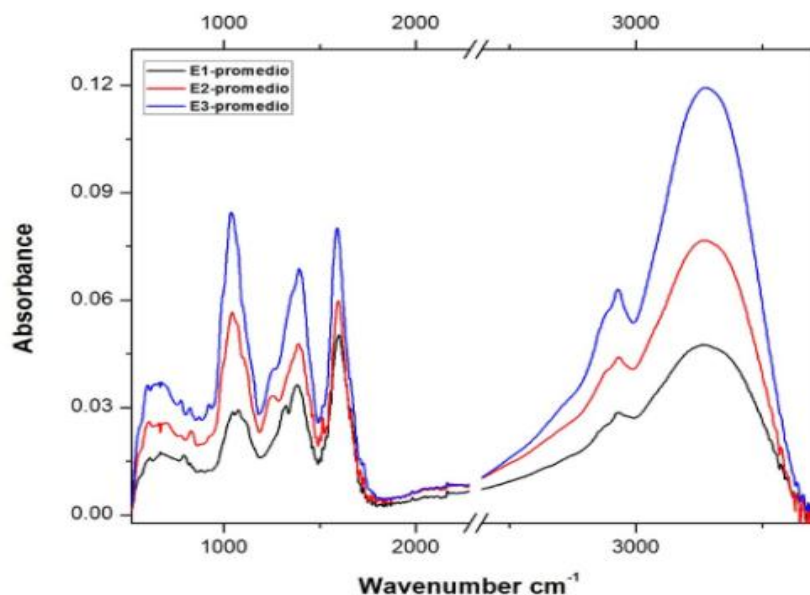
El perfil fitoquímico mostró la presencia de abundantes alcaloides, flavonoides y saponinas tanto en la parte aérea como en la raíz, a excepción de *M. uncinata* donde solo se presentaron en la parte aérea (tabla 1).

Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en extractos acuosos de *C. cornifera*, *M. uncinata* y *S. multcostatus*

METABOLITOS SECUNDARIOS	<i>C. cornifera</i>			<i>M. uncinata</i>		<i>S. multcostatus</i>		
	A, M	B	R	A, M, B	R	A, M	B	R
Alcaloides	+++	+++	+++	+++	-	+++	+++	+++
Esteroles	-	-	-	-	-	-	-	-
Flavonoides	+++	+++	++	+++	-	+++	+++	++
Quinonas	-	-	-	-	-	-	-	-
Taninos	-	-	-	-	-	-	-	-
Saponinas	+++	+++	+++	+++	-	+++	+++	++
Cumarinas	NR	NR	NR	NR	NR	++	++	++

Ensayo Positivo (+) (Contenido: + Poco, ++ Medio, +++ Abundante). Ensayo Negativo (-).
NR: No Presentado. A: Apical. M: Media. B: Basal. R: Raíz

Los resultados del FTIR (Gráfica 2), muestran bandas localizadas en 3250 cm^{-1} asignadas al grupo OH; 2930 cm^{-1} grupo CH; 1700 cm^{-1} al grupo C=O; 1430- 1410 cm^{-1} a los grupos CH₃ y CH₂, torsión ligera; 1250 cm^{-1} grupo ácido carboxílico de torsión y 1080 cm^{-1} al grupo C-OH primario, estiramiento entre C y el O. El análisis del FTIR, indica la presencia de grupos funcionales que corresponden a la presencia de alcaloides, flavonoides y saponinas; metabolitos secundarios presentes en las cactáceas analizadas.

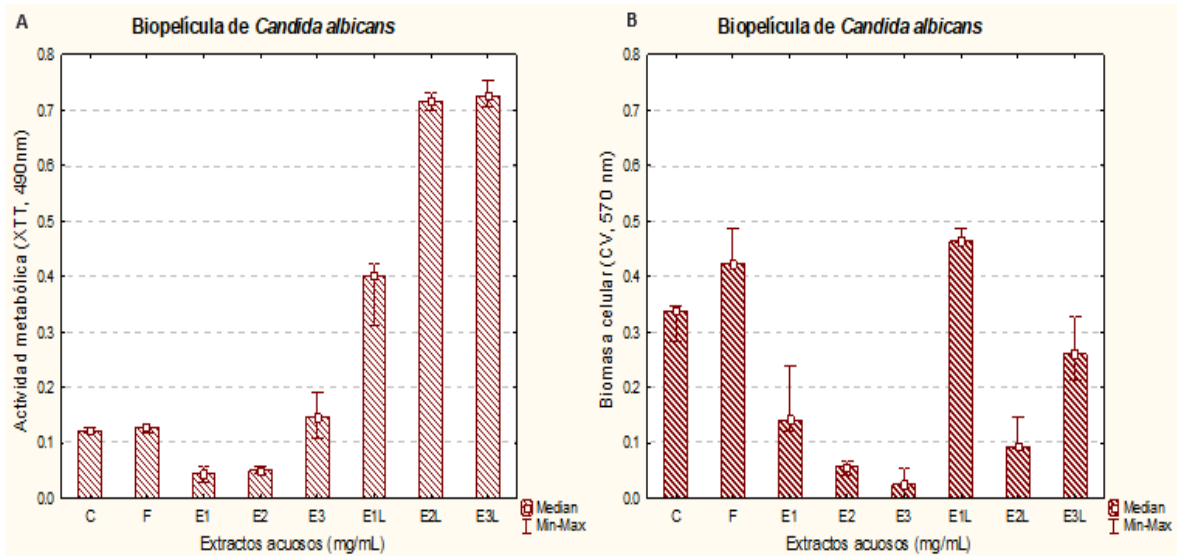


Gráfica 2. Espectroscopía de Infrarrojos Transformada de Fourier (FTIR). Extractos acuosos totales. E1: *Stenocactus multcostatus*. E2: *Coryphantha cornifera*. E3: *Mammillaria uncinata*

Determinación de la actividad antifúngica de los extractos acuosos de cactáceas globosas

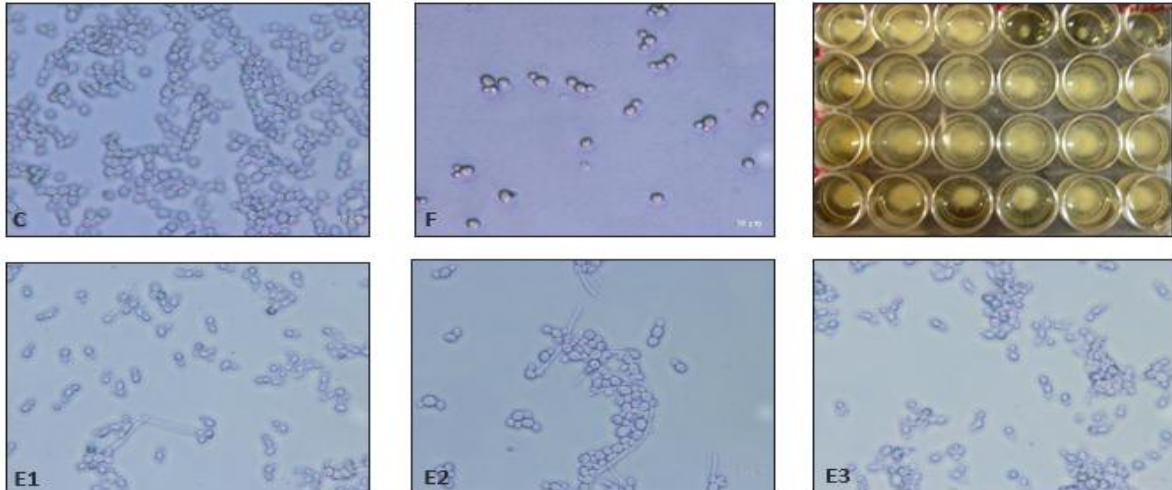
Las biopelículas maduras de los hongos no expuestos (control), se tomaron como el 100% de la actividad metabólica mitocondrial y biomasa. Los extractos acuosos de *S. multcostatus* y *C. cornifera* disminuyeron la actividad metabólica de biopelículas en *C. albicans* un 65% y 59%, en comparación

con el control (Gráfica 3. Panel A y B), con ligeras variaciones morfológicas en las hifas y la biopelícula (Gráfica 4).



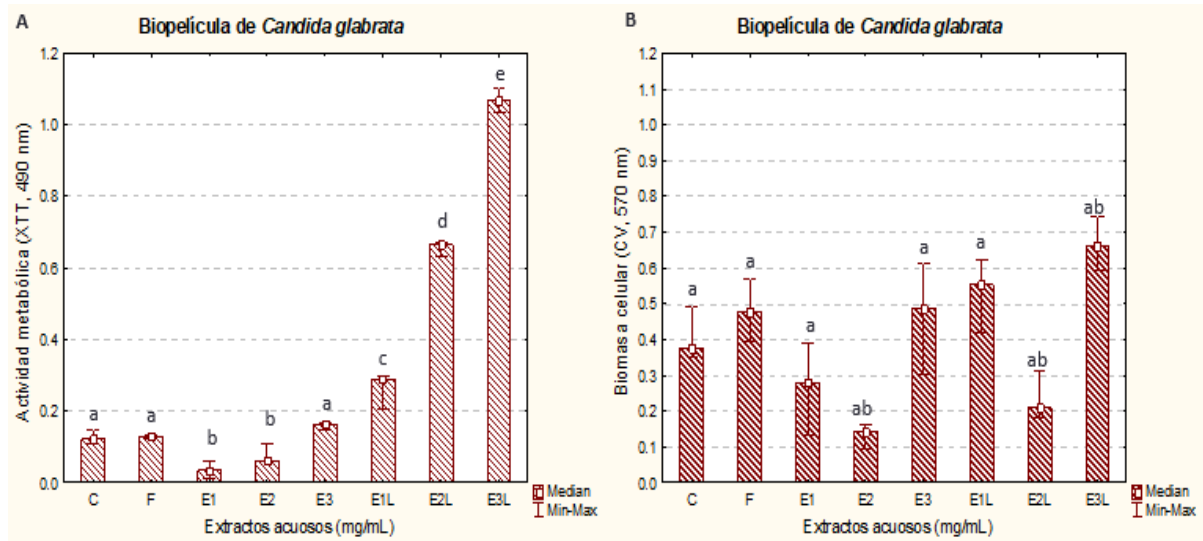
Gráfica 3. Efecto de extractos acuosos y fluconazol sobre biopelículas de *C. albicans*. Panel A. Actividad metabólica mitocondrial (XTT); Panel B. Biomasa celular (CV); (C: control; F: fluconazol; E1: Extracto de *S. multicosatus*; E2: Extracto de *C. cornifera*; E3: Extracto de *M. uncinata*; E1L: Extracto de *S. multicosatus* liofilizado; E2L: Extracto de *C. cornifera* liofilizado; E3L; Extracto de *M. uncinata* liofilizado) $P < 0.05$ $n = 3$ usando Kruskal-Wallis.

c



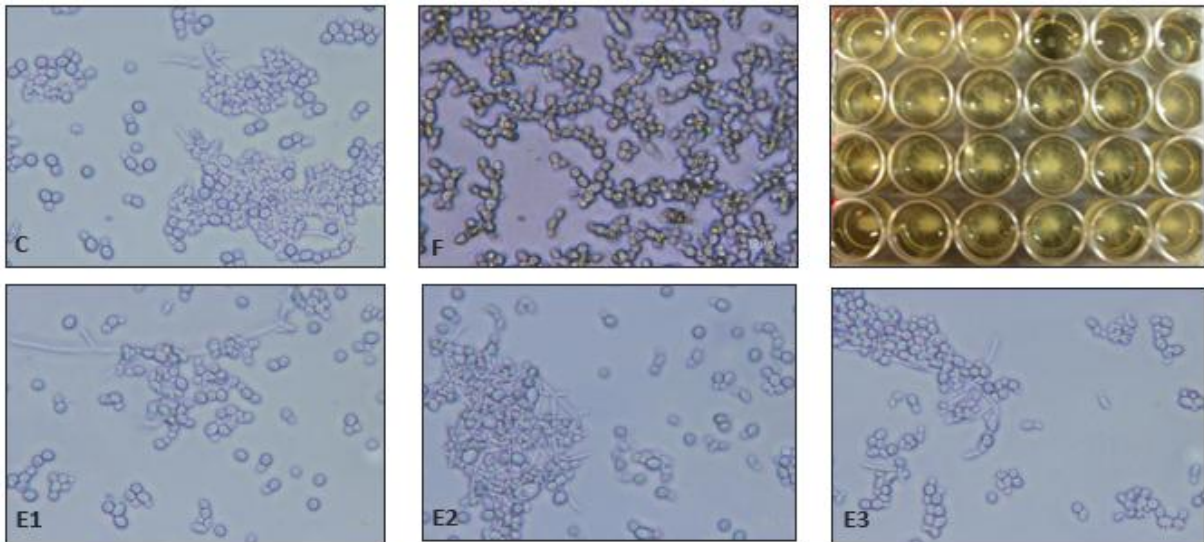
Gráfica 4. Efecto de extractos acuosos y fluconazol sobre la morfología de las biopelículas expuestas de *C. albicans*. Morfología de las biopelículas expuestas. (C: control; F: fluconazol; E1: Extracto de *S. multicosatus*; E2: Extracto de *C. cornifera*; E3: Extracto de *M. uncinata*; E1L: Extracto de *S. multicosatus* liofilizado; E2L: Extracto de *C. cornifera* liofilizado; E3L; Extracto de *M. uncinata* liofilizado) $P < 0.05$ $n = 3$ usando Kruskal-Wallis.

Mientras que con los extractos acuosos de *S. multicosatus* y *C. cornifera* en *C. glabrata*, la disminución de la actividad metabólica alcanzó el 71% y 49%; respectivamente en la actividad metabólica y la biomasa celular (Gráfica 5, Panel A y B) con ligeras variaciones en la morfología de la hifa y la biopelícula (Gráfica 6).



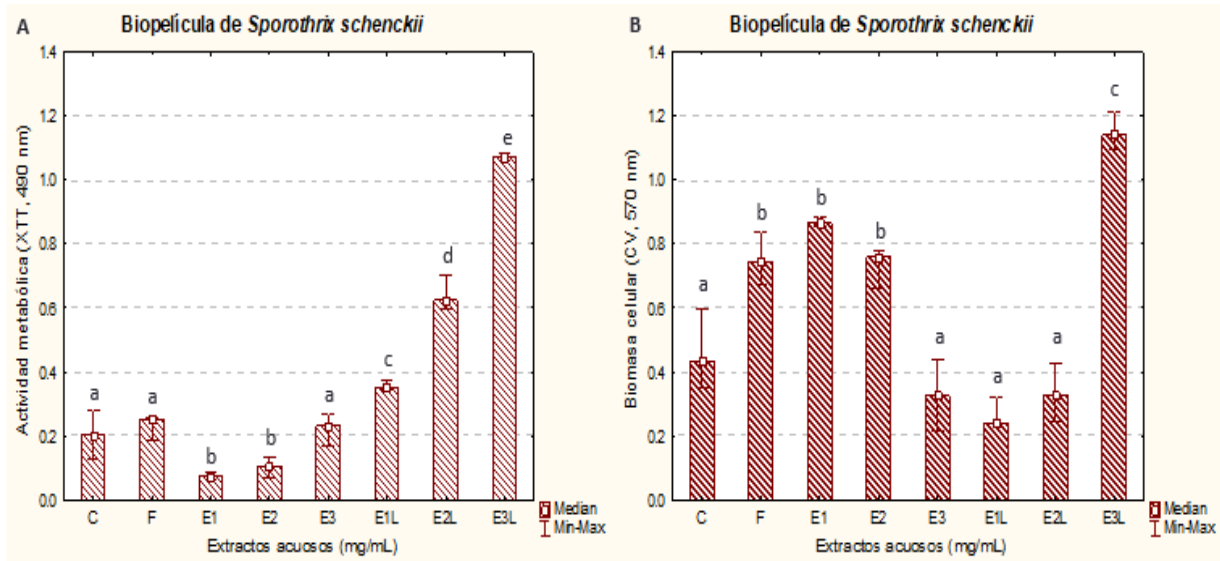
Gráfica 5. Efecto de extractos acuosos y fluconazol sobre biopelículas de *C. glabrata*. Panel A. Actividad metabólica mitocondrial (XTT, 490 nm); Panel B. Biomasa celular (CV, 570 nm); (C: control; F: fluconazol; E1: Extracto de *S. multicosatus*; E2: Extracto de *C. cornifera*; E3: Extracto de *M. uncinata*; E1L: Extracto de *S. multicosatus* liofilizado; E2L: Extracto de *C. cornifera* liofilizado; E3L; Extracto de *M. uncinata* liofilizado) $P < 0.05$ $n = 3$ usando Kruskal-Wallis.

c

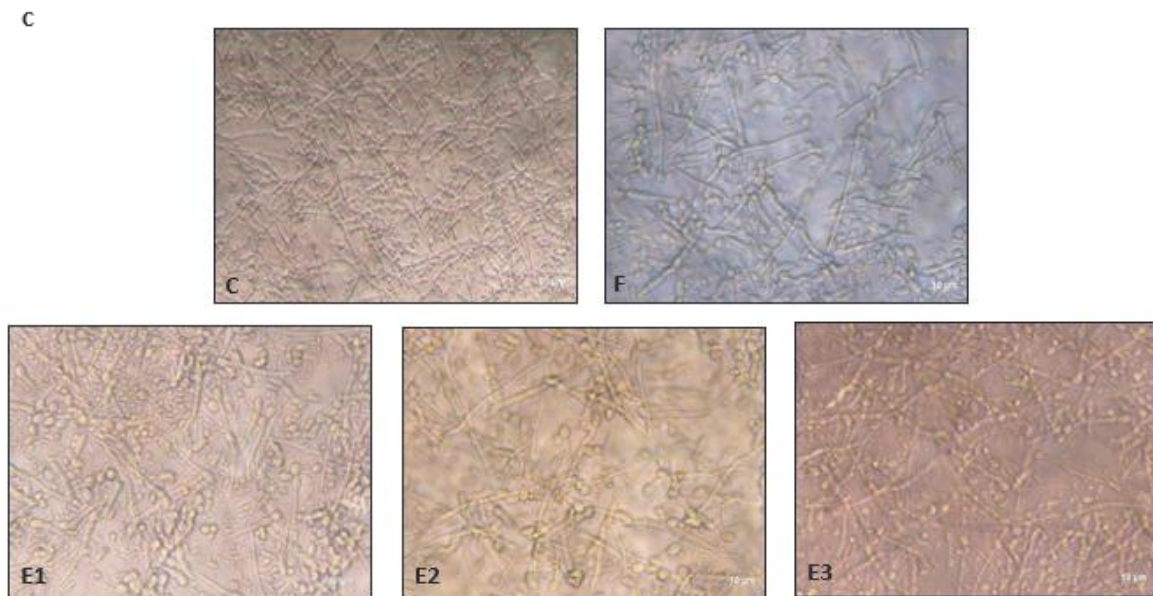


Gráfica 6. Efecto de extractos acuosos y fluconazol sobre la morfología de biopelículas de *C. glabrata*. (C: control; F: fluconazol; E1: Extracto de *S. multicosatus*; E2: Extracto de *C. cornifera*; E3: Extracto de *M. uncinata*; E1L: Extracto de *S. multicosatus* liofilizado; E2L: Extracto de *C. cornifera* liofilizado; E3L; Extracto de *M. uncinata* liofilizado) $P < 0.05$ $n = 3$ usando Kruskal-Wallis.

En *S. schenckii* los extractos de *S. multicosatus* y *C. cornifera* disminuyeron la actividad metabólica un 64% y 50%, la actividad metabólica y la biomasa, respectivamente (Gráfica 7, Panel A y B) con ligeros cambios en la morfología de la biopelícula (Gráfica 8).



Gráfica 7. Efecto de extractos acuosos y fluconazol sobre biopelículas de *S. schenckii*. Panel A. Actividad metabólica mitocondrial (XTT, 490 nm); Panel B. Biomasa celular (CV, 570 nm); (C: control; F: fluconazol; E1: Extracto de *S. multicosatus*; E2: Extracto de *C. cornifera*; E3: Extracto de *M. uncinata*; E1L: Extracto de *S. multicosatus* liofilizado; E2L: Extracto de *C. cornifera* liofilizado; E3L: Extracto de *M. uncinata* liofilizado) P<0.05 n=3 usando Kruskal-Wallis.



Gráfica 8. Efecto de extractos acuosos y fluconazol sobre la morfología de biopelículas de *S. schenckii*. (C: control; F: fluconazol; E1: Extracto de *S. multicosatus*; E2: Extracto de *C. cornifera*; E3: Extracto de *M. uncinata*; E1L: Extracto de *S. multicosatus* liofilizado; E2L: Extracto de *C. cornifera* liofilizado; E3L: Extracto de *M. uncinata* liofilizado) P<0.05 n=3 usando Kruskal-Wallis.

CONCLUSION

Los extractos acuosos de las cactáceas globosas, *S. multcostatus* y *C. cornifera*, presentaron actividad antifúngica frente a biopelículas maduras de *C. albicans*, *C. glabrata* y *S. schenckii*. Sin embargo, los extractos liofilizados no tienen actividad antifúngica en los hongos estudiados.

BIBLIOGRAFÍA

1. C. Garrido, J.M. Cantoral, M. Carbu, V. González-Rodríguez, F. Fernández-Acero. "New proteomic approaches to plant pathogenic fungi". *Current Proteomics*. Vol. 7, 4, 2010, pp. 306-315
2. L. Scorzoni, T. Benaducci, A. Almeida, D.H.S. Silva, V.D.S. Bolzani, M.J.S. Mendes Giannini. "Comparative study of disk diffusion and microdilution methods for evaluation of antifungal activity of natural compounds against medical yeasts *Candida* sp and *Cryptococcus* sp". *Revista de Ciencias Farmaceuticas Básica y Aplicada*. Vol. 1, 28, 2007, pp 25-34.
3. M. Razzaghi-Abyaneh, M. Rai. (Eds.). "Antifungal metabolites from plants". Springer: Berlin Heidelberg; 2013.
4. G.A. Vena, P. Chieco, F. Posa, A. Garofalo, A. Bosco, N. Cassano. "Epidemiology of dermatophytoses: retrospective analysis from 2005 to 2010 and comparison with previous data from 1975". *Journal of Microbiological Sciences*. Vol 2, 35, 2012, pp. 207-213.
5. N.D.L.C. Rodríguez, C. Santa Vélez. "Factores de virulencia para la infección de tejidos queratinizados por *Candida albicans* y hongos dermatofitos". *CES Medicina*. Vol 1, 26, 2012, pp. 43-55.
6. T.F. Patterson, G.R. Thompson, D.W. Denning, J.A. Fishman, S. Hadley, R. Herbrecht. "Practice guidelines for the diagnosis and management of Aspergillosis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America". *Clinical Infectious Diseases*. 2016, pp. 63:60.
7. J.A. Maertens. "History of the development of azole derivatives". *Clinical Microbiology and Infection*. Vol 1, 10, 2004, pp.1-10.
8. M.H. Miceli, C.A. Kauffman. "Isavuconazole: A new broad-spectrum triazole antifungal agent". *Clinical Infectious Diseases*. Vol 61, 2015, pp.1558-1565.
9. R. Garcia-Rubio, M. Cuenca-Estrella, E. Mellado. "Triazole resistance in *Aspergillus* species: An emerging Problem". *Drugs*. Vol 6, 77, 2017, pp. 559-613
10. J.R. Graybill. "The future of antifungal therapy". *Clinical Infectious Diseases*. Vol 22, 1996, pp. 166-178.
11. J.A. Maertens, M.A. Boogaerts. "Fungal cell wall inhibitors: emphasis on clinical aspects". *Current Pharmaceutical Design*. Vol 6, 2000, pp. 225-39.
12. B.S. Bhau, A.K. Wakhlu. "A highly efficient in vitro propagation protocol for elephant tusk cactus: *Coryphantha elephantidens* (Lem.) Lem". *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. Vol 13, 2015, pp. 215-219
13. Ma. L. De la Rosa-Carrillo, M. S. Domínguez-Rosales, M. E. Pérez-Reyes, E. Pérez-Molpe-Balch. "Cultivo y propagación in vitro de cactáceas amenazadas del género *Turbinicarpus*". *Interciencia*. Vol 2, 37, 2012. pp. 114-120
14. C. Ramírez Serrano, J.A. Teixeira da Silva. "Micropropagation of Cactus Plants (Cactaceae)". *Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology*. Vol 5. 2015. pp. 219-226.
15. N. Karimi, M. R. Mofid, M. Ebrahimi, R. Naderi. "Effect of areole and culture medium on callus induction and regeneration *Cereus peruvianus*". *Mill. (Cactaceae)*. *Trakia Journal of Sciences*. Vol 2, 8, 2010, pp. 31-35.
16. R. A. Garza-Padrón, M. J. Verde-Star, M. E. Morales-Rubio, A. Oranday-Cárdenas, C. Rivas-Morales, M. A. Núñez-González, M. P. Barrón-González. "Actividad amebicida, antioxidante y perfil fitoquímico de extractos metanólicos de *Astrophytum myriostigma* obtenidos de cultivo de callo y del cactus silvestre". *Polibotánica*, Vol 30, 2010, pp.111-121.
17. R. A. G. Padróna, M. P. Zamora, J. F. T. Neáveza, R. Gerardo, R. Garza, M. P. B. González, M. E. M. Rubio. "Germinación *in vitro* y respuesta morfogénica de *Lophocereus schottii*". *J. PACD*. Vol 14, 2012, pp. 24-34

18. O. Badalamenti, A. Carra, E. Oddo, F. Carimi, M. Sajeve. "Is *in vitro* micrografting a possible valid alternative to traditional micropropagation in Cactaceae? *Pelecypora aselliformis* as a case study". Springer Plus. Vol 1, 5, 2016. pp. 201
19. D. Ruvalcaba-Ruiz, D. Rojas-Bravo, A. J. Valencia-Botín. "Propagación *in vitro* de *Coryphantha retusa* (Britton & Rose) un cactus endémico y amenazado". Tropical and Subtropical Agroecosystems. Vol 1, 12, 2010.
20. A. El Finti, R. El Boullani, F. El Ayadi, N. Ait Aabd, A. El Mousadik. "Micropropagation *in vitro* of *Opuntia ficus-indica* in south of Morocco. IJCBS. Vol 1, 2012, pp. 6-10
21. M. A. Nazareno. "Phytochemicals of nutraceutical importance from cactus and their role in human health". In: Prakash D, Sharma G. editors. Phytochemicals of nutraceutical importance. Argentina: CABI. 2014. pp. 103-115
22. M. C. González-Díaz, M.E. Pérez-Reyes, E. Pérez-Molphe-Balch. "In vitro analysis of susceptibility to *Agrobacterium rhizogenes* in 65 species of Mexican cacti". Biologia Plantarum. Vol 3, 50, 2006, pp. 331-337
23. X. A. Domínguez. "Métodos de Investigación Fitoquímica". Limusa. 1 Edición. México, 1973. Pp. 39-237
24. F. L. R. Tecanhuey. "Estudio Fitoquímico de *Ipomoea murucoides*. Tesis de Licenciatura. Departamento de Química y Biología, Escuela de Ciencias, Universidad de las Américas, Puebla. 2005
25. S. Silva, M. Henriques, A. Martins, R. Oliveira, D. Williams, J. Azeredo. "Biofilm of non-*Candida albicans* species: quantification, structure and matrix composition". Med. Myco Vol 47. pp. 681-689
26. R. Sanchez-Herrera, L.L. Flores-Villavicencio, I. Padilla-Guerrero, G. Barbosa-Sabanero, M. Sabanero-López. "Biofilm formation in the pathogenic fungus *Sporothrix schenckii*: development, architecture and biochemical characteristics". Acta Universitaria. 24. 2015.pp 11-15.

LA PAPILOSCOPIA COMO HERRAMIENTA DE IDENTIFICACION

Aline Edurne San Juan Meza, Viviana Matilde Mesa Cornejo

Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara.

RESUMEN

La papiloscopia es la ciencia que estudia los diseños en la epidermis de los dedos y en las superficies de manos y pies para demostrar la identidad humana.

En el mundo se cotejan millones de registros, incluso fragmentados, ya que en la investigación penal las huellas aportan más pruebas que las demás técnicas forenses unidas.

Las crestas papilares poseen glándulas de secreción situadas en la dermis, constan de un tubo formado por un glomérulo y un canal rectilíneo y terminan en la capa córnea de la epidermis, concretamente en el poro. Los queratinocitos en ellas expresan queratinas específicas como la K9, K6 y K16. También presentan el patrón más complejo de distribución de queratina. Cuando el organismo secreta sudor, ésta se derrama sobre las crestas y se mezcla con la grasa natural, provocando que al manipular un objeto apto, las crestas queden impresas en él.

Para el presente trabajo se realizó una toma de dactilogramas a individuos voluntarios, se utilizaron vapores de yodo y se trabajó in situ sobre una superficie de papel. Para comparar la eficiencia del método se compararon resultados mediante la técnica de ninhidrina y al final fue analizada la calidad de los dactilogramas con edición fotográfica.

Dentro de las conclusiones más relevantes se encontró que la química de los residuos de las huellas está influenciada por su interacción superficial y su exposición a múltiples condiciones ambientales en diferentes periodos de tiempo. De igual manera se comprobó que los vapores de yodo al igual que los de la ninhidrina favorecen el revelado de huellas recientes.

INTRODUCCIÓN

Los chinos son la primera cultura que se conoce por haber utilizado impresiones de crestas de fricción como medio de identificación, esculpiendo sus sellos en arcilla durante la edad antigua.

En 1687, el fisiólogo Marcello Malpighi publicó Concerning the External Tactile Organs, donde aborda la función, forma y estructura de las crestas de fricción. Malpighi señaló que la piel surcada aumenta la fricción entre un objeto y la superficie de la piel y así la cresta de fricción de la piel mejora la tracción para caminar y sujetar.

En 1788 J.A. Mayer, médico y anatomista alemán, escribió el libro titulado Anatomical Copper-plates with Appropriate Ex-planations, que contenía los planos detallados de los patrones de las crestas de fricción en piel. Mayer escribió: « Aunque la disposición de las crestas de la piel nunca se duplica en dos personas, las similitudes son más cercanas entre algunos individuos »

En 1883 del Dr. Arthur Kollmann, estudió el desarrollo embriológico de las crestas en la piel, proponiendo que las crestas se forman por la presión entre crestas nacientes y que las crestas son discernibles en el cuarto mes de vida fetal y están completamente formadas en el sexto. Kollman fue el primero en identificar la ubicación de las almohadillas palmares de las manos y los pies.

En 1903, después de varios meses de tomar las huellas dactilares a criminales tras su liberación, el Capitán James H. Parke desarrolló el Sistema de Clasificación Americano para dactilogramas. Que fue el primer uso sistemático de la toma de huellas dactilares para efectos de antecedentes penales en los Estados Unidos.

La piel de las crestas de fricción tiene rasgos singulares que persisten desde el nacimiento hasta la descomposición, después de la muerte, es la epidermis quien reproduce fielmente las crestas tridimensionales debido a las adhesiones físicas y a la regulación constante de la proliferación y diferenciación de las células.

Desarrollo de la Almohadilla Palmar

Las almohadillas son una inflamación transitoria de tejido debajo de la epidermis en la superficie de la palma de las manos del feto, permanecen redondeadas alrededor de 10 semanas donde termina su rápido crecimiento, después de lo cual comienzan a demostrar variación individual en forma y posición. Como resultado de la desaceleración del crecimiento, su contorno se vuelve progresivamente indiferenciable en la superficie de más rápido crecimiento, a éste proceso se ha definido como "regresión" (Lacroix,1984).

Desarrollo de la Epidermis

A las 8 semanas, las células basales entre epidermis y dermis comienzan a dividirse y originan células hijas que se mueven para formar la primera de las capas intermedias (Holbrook, 1991b). En este punto la epidermis embrionaria es de tres a cuatro células de espesor, pero aun es lisa. Alrededor de las 11 semanas, las células basales de la epidermis comienzan a dividirse para formar crestas superficiales, estas delinearán el patrón general que llegará a establecerse de forma permanente en las superficies palmares en semanas consecutivas. La teoría dominante de los eventos mencionados implica centros de proliferación celular activa que se convertirán en centros de desarrollo de glándulas sudoríparas (Babler, 1991). Según esta teoría, las “unidades” de células que se multiplican y aumentan de diámetro, son al azar.

La presión física en un sistema celular puede desencadenar cambios en ese sistema. Incluso antes de la formación de crestas, las tensiones creadas por las diferentes tasas de crecimiento de dermis y epidermis causan que el crecimiento celular sea diferencial a lo largo de líneas invisibles que delinearán las características de un cierto patrón (Loesch, 1973). Las crestas primarias maduran y se extienden hasta aproximadamente 16 semanas, el crecimiento celular durante esta fase de desarrollo es a lo largo de la arista principal, en lo que se ha denominado el “compartimento proliferativo”, sitio donde se producirán variaciones conocidas como minucias las cuales estarán ubicadas según lo dictaminen las pequeñas diferencias en la tensión mecánica, o los cambios en el medio fisiológico.

Entre las 15 y 17 semanas de gestación, las crestas secundarias aparecen entre las primarias, en este momento en el desarrollo fetal, las minucias ubicadas al azar se vuelven fijas y se marca el final de formación de la cresta (Babler, 1991).

Bonnevie hipotetizó por primera vez en 1924 que la altura de la almohadilla afecta los patrones de las crestas (Bonnevie, 1924). Casi todas las investigaciones apuntan a la conclusión de que la forma de la almohadilla palmar influye en la tensión de la piel y por tanto en cómo se alinean las crestas de fricción.

El crecimiento y la regresión de las almohadillas palmares producen tensiones físicas variables a través de la superficie que afecta a la alineación de las crestas. Una almohadilla de dedo que regresa simétricamente formará un patrón espiral, con mayor regresión; un patrón de arco se forma del mismo modo; yemas de los dedos asimétricas formarán patrones de bucle mejor conocidas como presillas y también serán afectadas por el tiempo.

Para hacer las cosas aún más complejas, el tamaño de la almohadilla con respecto al dedo también se ve afectada por muchos factores. La ingesta de la dieta y química de la madre (Holbrook, 1991b), los niveles de hormonas (Jamison, 1990), los niveles de radiación (Bhasin, 1980), así como otros factores que afectan la tasa de crecimiento del feto durante la etapa crítica todos puedan afectar indirectamente al conteo de las crestas de fricción en desarrollo en el dedo.

Huellas dactilares como medio de identificación

La identificación personal es ineludible tanto en los aspectos civiles como ámbitos jurídicos, administrativos o políticos por mencionar algunos, recientemente se sabe que la necesidad de seguridad informática ha derivado incluso en técnicas de identificación biométrica, nuestros propios teléfonos inteligentes cuentan hoy con sensores únicamente diseñados con el propósito de mantener la privacidad de un equipo y garantizar seguridad a sus usuarios, por otra parte, en el campo de la criminalística particularmente, hay un latente interés debido a las pruebas que aportan elementos como las huellas dactilares pueden demostrar hechos que vinculen al delincuente con su delito, y por otro lado permiten el reconocimiento de las víctimas cuando su identidad visualmente es irreconocible (Luvian y Arias, 2010).

Dentro de las técnicas de identificación humana, la Dactiloscopia es la ciencia más conocida y aplicada con fines de identificación. Científicamente, el hombre sin plena identificación no existe, porque cada persona lleva en sí un nombre imborrable, un nombre natural que los distingue de todos los demás ese nombre inmodificable lo constituyen los dibujos formados por las crestas papilares o líneas que aparecen en la última falange de los dedos de las manos (Díaz, 2010).

Los factores a los que se atribuye la presencia o ausencia de la impresión son: la naturaleza de la superficie, el tiempo transcurrido desde que fue depositada y las condiciones de preservación.

Diversos tipos de equipo, tintas, escáneres y técnicas se utilizan para registrar detalles de las crestas de fricción. Aunque el concepto de registro de detalles de las crestas de fricción parece básico, se

requiere siempre de atención y determinación para obtener registros de la mejor calidad puesto que la obtención de registros completos y legibles es una necesidad en la revisión de huellas latentes. El proceso químico que permite dar identidad a un ser humano es en extremo complicado ya que hay múltiples variables químicas que pueden encontrarse en una huella latente, como anteriormente se ha reportado el sebo que se encuentra en las palmas de nuestras manos está compuesto por varios tipos de grasas y aceites además de los cuales encontraremos sales minerales, agua y toxinas provenientes de nuestro sudor, incluyendo también todos los factores físicos que pudieron salpicar parte de sus partículas sobre la huella como lo son el polvo y otras partículas microscópicas derivadas de bacterias, como si no fuera suficiente, la luz y la humedad también cambian la naturaleza de las huellas que se recolectan de una escena del crimen, produciendo cambios dramáticos en la composición original de una huella y dificultado que exista un único método que pueda prever todas estas condiciones, estos cambios pueden explicar por qué algunos reactivos como los polvos o los vapores de yodo favorecen el revelado de huellas latentes cuando éstas son recientes, a diferencia de otros reactivos que pueden ser aplicados en huellas latentes no recientes (Casillas, 2016).

Fundamento de la acción del yodo

Las glándulas sebáceas excretan un material graso, el sebo, por desintegración de las células. Este proceso recibe el nombre de secreción holocrina. El sebo humano contiene escualeno, colesterol, ésteres de colesterol, ésteres céreos y triglicéridos. Estos últimos son parcialmente hidrolizados a mono- y di-glicéridos por las enzimas bacterianas presentes en el canal folicular.

Una propiedad de los compuestos de carbono no saturados es su capacidad de adicionar halógenos. La reactividad del halógeno determina hasta cierto punto la extensión a la que puede tener lugar una sustitución.

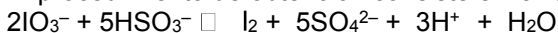
El índice de yodo es una escala utilizada para definir un grado de insaturación de un compuesto orgánico que contiene enlaces diénicos o triénicos. Este estudio tiene el propósito de cuantificar el halógeno que no reacciona, la velocidad de adición del yodo a los dobles enlaces es muy lenta. Por estas razones se usan combinaciones de halógenos (ICl y IBr), compuestos interhalogénicos que se adicionan selectivamente a los dobles enlaces.

Partiendo de la interacción que se produce entre los dobles enlaces de las moléculas que componen el sebo de las manos, podemos aplicar el principio del índice del yodo desde un punto de vista cualitativo, es decir, aquí nuestro propósito no será demostrar que los insaturados tengan una cierta proporción y calcularla, sino simplemente que estén presentes para que puedan interactuar con el yodo y mostrar un patrón que es invisible a simple vista. Esta imagen, debe representar la superficie papilar de los dedos a manera de mapa, esto se logra gracias a que las sustancias son secretadas y adheridas completamente a la superficie irregular de las yemas, la cual tiene un soporte extremadamente duro gracias a sus filamentos de queratina que soportan la fricción y la flexión de los dedos, mientras que por otra parte, los surcos en las yemas no se pintarán con los vapores de yodo ya que al no ser, los espacios entre las yemas, superficies adherentes en el dactilograma se verán de color blanco. Así con la presión que ejerce el individuo al dejar sus huellas sobre la superficie es suficiente para poder revelar sus huellas, siempre que el tiempo no juegue en contra, ya que la humedad y otros factores podrían hacer que se perdieran los componentes grasos que son de interés o que estos sean hidrolizados por bacterias o sean contaminados por polvo.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Diseño del método para la obtención del yodo

El procedimiento de obtención consiste en la reducción de iodato por bisulfito



Se determina la pureza del yodo luego de sublimarlo. Para ello se determina el contenido de yodo en una muestra por titulación con una solución de tiosulfato de sodio de concentración exactamente conocida, usando almidón como indicador:



Si no hay otras sustancias coloreadas en el medio de reacción, el yodo puede usarse como autoindicador. Igualmente, si se desea obtener un viraje más pronunciado en el punto final se puede usar almidón. En este caso, se observará la desaparición del color azul del complejo yodo-almidón. Si a la solución se le adiciona una pequeña cantidad de almidón, compuesto usado para detectar por yodo, se ocasiona que la solución cambie a azul brillante y se mantenga por más tiempo, cuando se han utilizado los vapores de yodo para revelar huellas latentes sobre papel y éste tiene una cantidad considerable de almidón en su encolado, es posible fijar las huellas pasando el papel momentáneamente a través de una corriente de vapor. La reacción entre el yodo en la huella y el almidón del papel dará una coloración azul profundo que persistirá por algún tiempo.

Toma de Dactilogramas

1. Se realizó la toma de muestras, in situ, bajo superficies de celulosa mediante el empleo del yodo sintetizado previamente.
2. Se observaron las características recuperadas de cada dactilograma y se realizó una base de datos.
3. Se tomaron fotografías de huellas individuales de los dedos pulgares con el propósito de encontrar huellas de los 4 tipos.
4. Se contrastaron con la credencial escolar para ver la calidad entre los dactilogramas.

RESULTADOS

Dentro de los patrones observados, se encuentran:

Arco: Las huellas que presentan este patrón consisten en sistemas de líneas se arquean formando arcos llanos o simples, o que se quiebran formando arcos angulares o quebrados, o caen visiblemente a la derecha o izquierda del observador hubo algunas excepciones donde los arcos no estaban bien definidos en todos los dedos, sino que eran más sobresalientes solo en los pulgares.

Presilla interna: El sistema de líneas en un momento de su recorrido vuelve sobre sí mismo formando un apresillamiento, con la presencia de figuras délticas situadas a la derecha del observador.

Presilla externa: Hay un conjunto de líneas que en un momento de su recorrido se vuelve sobre sí misma formando un asa central con figuras délticas situadas a la izquierda del observador.

Verticilo: El sistema de líneas que en un momento de su recorrido se agrupan formando núcleo o centro con la presencia de dos o más deltas opuestos.

Los resultados obtenidos de la toma de 60 dactilogramas se pueden ver en la tabla 1.

Tipo de huella	Número de individuos	Subgrupo		Porcentaje
Arco y variantes	15	5	Piniforme	8.33
		8	Normal	13.33
		1	Pseudodelto	1.66
Presilla externa	11	-	-	18.33
Presilla interna	7	-	-	11.66
Verticilo y variantes	27	23	Normal	38.33
		4	Ovoidal	6.66
		0	Sinuoso	0

Tabla 1. Clasificación de los patrones obtenidos.

Basados en la teoría de regresión y simetría en contraste con la información que recuperan los dactilogramas tomados se encontró que 42 de las 60 personas que participaron en el estudio probablemente sean el resultado de la regresión de una almohadilla simétrica que en su fase embrionaria posibilitó que presenten patrones de espiral y arco. A su vez estos últimos presentaron una mayor regresión y por eso los pliegues de sus crestas se estiraron en lugar de plegarse en un espiral.

Tan solo 18 de las pruebas presentan las características de presilla que sugieren una almohadilla asimétrica a diferentes niveles de regresión, una nueva pregunta interesante surge de analizar estas huellas ya que no existe en la teoría ningún referente a por que la presilla se orienta en una u otra dirección.

A 2 de los resultados anteriores se les realizó un segundo estudio para comparar los resultados con las huellas digitales que están en sus identificaciones (credencial de estudiante o INE), los resultados de las dos imágenes se muestran en la Fig. 2.

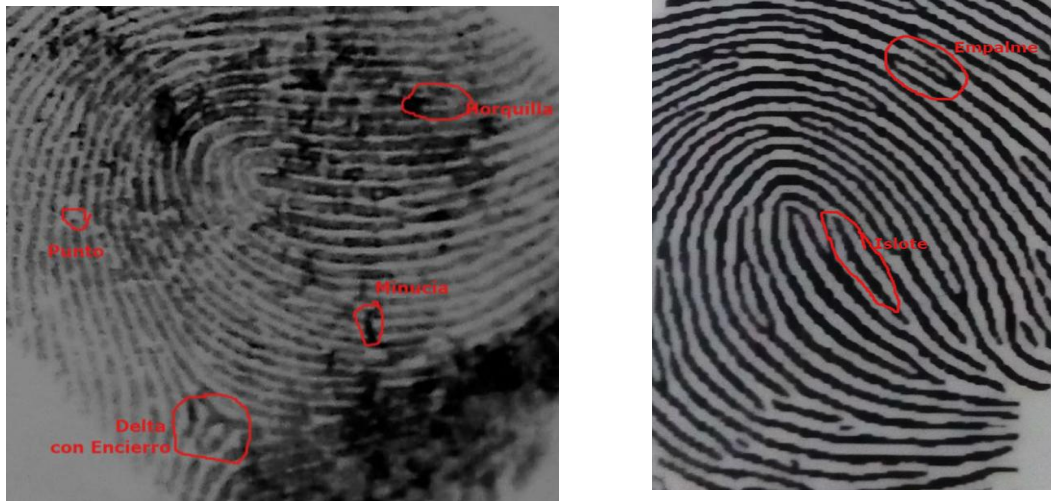


Fig. 2. Izq. dactilograma de presilla externa con identificadores 400 aumentos en Photoshop. Der. dactilograma digital de la credencial 400 aumentos en Photoshop.

La calidad del dactilograma en vapores de yodo se realizó con modificaciones de contraste y edición de calidad en la plataforma de Adobe Photoshop C6.

Los dactilogramas permanecieron legibles de huellas durante 10 días, después se observaron manchas amarillentas alrededor de la silueta de las manos.

En contraste, se realizó una prueba de ninhidrina a una huella digital recuperada de una superficie de papel y luego de revelarse por el hidrato de tricetohidrindeno, se observó que la muestra se degradó hasta adquirir un color rosa pálido y se mantuvo visible pero borrosa durante 14 días.

CONCLUSIONES

- Este experimento permitió comparar los dactilogramas con reportes de teorías que proponen como se construyen los patrones únicos entre individuos y generar una estadística para la muestra analizada.
- Se realizó el empalme de técnicas digitales como la fotografía con el análisis de imágenes y sus aplicaciones prácticas en el área biológica.
- Se logró la propuesta de un método para poder producir el reactivo propio para revelado por yodo mediante reacciones de oxidación y permitió aumentar el tiempo útil del mismo gracias a la adición de almidón.
- Finalmente con este trabajo evidenció la interacción de la grasa natural de las palmas de las manos con elementos halógenos como el yodo y a su vez confirmar que debido a su composición se pueden utilizar las interacciones de sustancias con instauraciones, presentes en ella para revelar en este caso patrones en superficies porosas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Babler, W. J. Embryologic Development of Epidermal Ridges and Their Configurations. In *Dermatoglyphics: Science in Transition*; Plato, C., Garruto, R., Schaumann, B., Eds.; Birth Defects Original Article Series; March of Dimes: New York, 1991.

2. Bhasin, M. Effect of Natural Background Radiation on Dermatoglyphic Traits. *Acta Anthropogenética* 1980.
3. Bonnevie, K. Studies on Papillary Patterns on Human Fingers. *J. Genetics* 1924A. G. Evans, "Perspectiva on the development of high-toughness ceramics", *J. Am. Ceram. Soc.*, Vol. 73, 2, 1990, pp. 187-206.
4. Casillas, E.N. Estandarización de las técnicas de revelado de huellas latentes en superficies porosas y no porosas. *Revista CLEU León, Gto.* 2016.
5. Diaz, J. *Lecciones de Criminalística*. Medellín, Colombia: Sello Editorial, Universidad de Medellín, 2010.
6. Holbrook, K. A. Structure and Development of the Skin. In *Pathophysiology of Dermatologic Diseases*, 2nd ed.; Soter, M., Baden, H., Eds.; McGraw-Hill: New York, 1991.
7. Jamison, C. Dermatoglyphics and the Geschwind Hypothesis Digital Results of Dyslexia and Developmental Implications. In *Trends in Dermatoglyphic Research*; Durham, N., Plato, C., Eds.; Kluwer Academic Press: Dord-recht, Netherlands, 1990;
8. Lacroix, B.; Wolff-Wuenot, M.; Haffen, K. Early Human Hand Morphology: An Estimation of Fetal Age. *Early Human Development* 1984.
9. Loesch, D. The Contributions of L.S. Penrose to Dermatoglyphics. *J. Mental Deficiency Res.* 1984.
10. Lubian y Arias, Rafael. 2010. *Dactiloscopía*. España: Reus, 2010.

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EXTRACTO LIOFILIZADO DE LUPINUS MEXICANUS SOBRE LA SUPERVIVENCIA DEL ORGANISMO MODELO *C. ELEGANS*

Gabriela Camargo Hernandez¹, Jacinto Bañuelos Pineda¹, Miguel Antonio Maldonado Rubio², Manuel de Jesus Gallegos Saucedo³, Pedro Macedonio García López¹, Juan Francisco Zamora Natera¹, Ramón Rodríguez Macías¹ y Leonardo Hernandez-Hernandez⁴

¹Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara,

²Laboratorio de Neurofisiología, Centro Universidad de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara, ³Doctorado en Farmacología, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara, ⁴Departamento de Fisiología, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara. gabycamargoh@gmail.com; leohhdez@hotmail.com.

RESUMEN

El nematodo *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) es un organismo que se ha desarrollado como un poderoso modelo en la investigación biomédica y utilizado en el estudio de diversos productos naturales y fitoquímicos. Objetivo: Analizar el efecto del extracto liofilizado de *Lupinus Mexicanus* (LM) en la supervivencia del organismo modelo *Caenorhabditis elegans*. Metodología: Las semillas de las plantas del género LM se obtuvieron de vainas maduras colectadas de poblaciones silvestres localizadas en el Nevado de Colima. Las semillas se preservaron en envases herméticamente cerrados a 4°C, para posteriormente procesarse y obtener el extracto liofilizado de LM (ELLM). El ELLM, fue diluido en 1mL de Dimetilsulfóxido (DMSO), 86µL del ELLM se colocaron en 5.914mL de buffer M9. La concentración final del extracto fue de 2mg/mL; realizamos diluciones de 1mg/mL, 0.5mg/mL, 0.1mg/mL, 0.05mg/mL y 0.01mg/mL. Utilizamos *C. elegans* adultos con edad sincronizada de la cepa N2 Wild Type, cultivados en placas de agar NGM sembradas con *E. coli* OP50-1. Los nemátodos n=30 fueron expuestos a las diferentes concentraciones del ELLM. También se incluyó un grupo control con buffer M9. El porcentaje de supervivencia de los nemátodos, se obtuvo cuantificando el número de nemátodos vivos y muertos, en los diferentes tiempos de exposición al ELLM de 1, 2, 3, 4, 5 y 24 horas, y se elaboraron curvas de supervivencia de Kaplan-Meier. Resultados: La supervivencia en nemátodos expuestos a 0.1mg/mL del ELLM fue del 75% a las 5hrs de exposición y del 70% a las 24hrs, mientras que en el grupo Control la supervivencia fue del 95% a las 5hrs y del 80% a las 24hrs. Conclusiones: La simplicidad y el costo-beneficio del cultivo de *C. elegans* lo hacen un efectivo modelo in vivo que provee datos de relevancia para la investigación de fitoquímicos con efectos terapéuticos o tóxicos de plantas silvestres mexicanas.

INTRODUCCIÓN

El estrés oxidativo contribuye al envejecimiento, al deterioro funcional y al aumento en la mortalidad. Esto ha fundamentado estudios sobre daño oxidativo realizados en modelos animales como el nemátodo *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*).

Se han reportado algunos productos naturales con presuntas propiedades antioxidantes capaces de reducir el daño oxidativo. En este estudio se obtuvo el extracto liofilizado de *Lupinus Mexicanus* (ELLM). Esta planta crece en estados del centro-occidente de México y posee compuestos antioxidantes flavonoides e isoflavonoides. Los compuestos fenólicos tales como flavonoides e isoflavonoides están presentes en varias partes de la planta de Lupino, incluyendo las semillas. Estas sustancias están relacionadas a alta actividad antioxidante y puede ser considerado como un producto natural para combatir los radicales libres causados por el estrés oxidativo.

El género *Lupinus*, con más de 300 especies descritas, forma un grupo importante dentro de la familia *Leguminosae*, tribu *Genisteae*. Doce especies son originarias de Europa y África, mientras que el resto se encuentran distribuidas en América, desde Alaska hasta Argentina. Las especies de *Lupinus* son quizás más conocidas por la mayoría de las personas en el mundo, como flores de jardín u ornato o plantas de abono verde. Desde hace mucho tiempo se sabe que los *Lupinos* fueron domesticados de forma independiente como leguminosas tanto en el Mediterráneo como en los Andes; algunas especies del género, tales como *Lupinus angustifolius*, *Lupinus albus*, *Lupinus luteus* y *Lupinus mutabilis*, han sido cultivadas en diferentes partes del mundo debido a que el follaje y principalmente las semillas representan una fuente importante de proteínas cuyos valores varían de 30 a 40% en base seca según la especie, variedad y condiciones ambientales. En México el número

de especies del género *Lupinus* es ~111 (1), que se distribuyen desde Baja California a Chiapas a lo largo de las cadenas montañosas, con una mayor diversidad en la Faja Volcánica Transmexicana la cual forma parte del cinturón de fuego del pacífico (Pacific ring of fire). Entre estas, *Lupinus Mexicanus*, es una especie anual o bianual que crece en claros de bosques de coníferas, a orillas de caminos y zonas de cultivo a 1800-2200 msnm. Se distribuye en los estados de Jalisco, Morelos, Puebla, Estado de México, Michoacán, Colima y Guanajuato (1).

En los últimos años, el empleo de antioxidantes sintéticos con fines terapéuticos ha sido altamente cuestionado (2). En este contexto, ha ganado interés la búsqueda y utilización de compuestos antioxidantes de origen natural. Esto se inserta dentro de la tendencia mundial actual, de abordar el uso de las fuentes naturales para la obtención de fármacos efectivos contra diversas enfermedades (3). A partir de estas consideraciones, se ha propuesto el uso de extractos de plantas u otras fuentes naturales como agentes neuroprotectores, ya que pueden constituir mezclas de compuestos antioxidantes con diversos mecanismos de acción. Entre las ventajas que proporcionan los antioxidantes naturales, están su elevada diversidad molecular y funcionalidad biológica, así como baja toxicidad, por ende, su uso es mayormente aceptado como seguro. Es importante mencionar que en algunos casos se encuentran antioxidantes naturales que pueden llegar a provocar un riesgo toxicológico en los humanos (3).

Investigaciones realizadas por Prahlad (4) y Johnson (5) donde han examinado las propiedades antioxidantes de extractos de plantas, algunos de estos se han realizado usando modelos animales, incluyendo al nemátodo *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*). El *C. elegans* es un organismo simple, con un sistema nervioso complejo completamente mapeado. Diversos estudios relacionados con el estrés oxidativo han sido realizados en diferentes organismos modelo, incluyendo al *Caenorhabditis elegans*, la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* y el ratón *Mus musculus*. En este sentido, el *C. elegans* se ha reconocido como un organismo modelo biológico y genético atractivo para el estudio de los procesos fisiológicos básicos. Adicionalmente como modelo animal presenta la ventaja de ser de fácil manejo en el laboratorio y tener bajo costo de mantenimiento (6). *C. elegans* es un nemátodo perteneciente a la familia *Rhabditidae*, de vida libre, de 1 mm de longitud, cada adulto hermafrodita es capaz de colocar un promedio de 200 a 300 huevos. El *C. elegans* es un organismo simple y consta de cuatro etapas larvianas antes de llegar a ser un adulto, durante el segundo estado larvario puede entrar a un estado alternativo resistente a condiciones desfavorables como estrés ambiental, sobrepoblación o carencia de alimento, llamado *Dauer*, y ante estas condiciones adversas al entrar en la etapa de resistencia *Dauer* el *C. elegans* es capaz de extender su duración de la vida. Se ha demostrado que *C. elegans* posee las enzimas antioxidantes (CAT, SOD y GPx) y forman parte de su sistema de defensa antioxidante, del mismo modo que ocurre en vertebrados. Asimismo, en *C. elegans* se encuentra la vía de señalización del factor de crecimiento I similar a la insulina por sus siglas en inglés IGF-1, se ha encontrado que esta vía en *C. elegans*; controla su metabolismo, desarrollo, longevidad y respuesta al estrés y muestra un alto grado de conservación evolutiva de secuencias de proteínas y de sitios de fosforilación, lo cual sugiere un complejo regulatorio similar en la señalización por insulina de mamíferos. En este sentido, este nemátodo brinda una oportunidad hacia una visión integrada de la respuesta del organismo a diversos estreses ambientales en correlación con sus mecanismos celulares y moleculares (7).

METODOLOGÍA

Cultivo y mantenimiento de la cepa de *C. elegans*: Se utilizaron nematodos adultos de un día, de la cepa N2 Wild Type (N2 WT) del tipo Bristol que fueron obtenidos del *Caenorhabditis Genetics Center* (Minneapolis, MN, EUA). Todos los experimentos fueron realizados sobre animales con la edad sincronizada. Dicha sincronización fue obtenida por la colección y el cultivo de los huevos puestos por los sujetos adultos provenientes de la fase *Dauer* según métodos estándar (8). Los stocks de las cepas de gusanos fértiles fueron cultivados, de acuerdo a técnicas estándar, en placas de agar con medio de crecimiento estándar de nemátodo agar NGM, y se mantuvieron a 20 °C de acuerdo a lo descrito por Brenner 1974. Los nemátodos fueron seleccionados y tomados con un alambre de platino estéril aplanado en su extremo a manera de paleta. La fuente de alimento usada para el mantenimiento de los *C. elegans* fue la cepa de *E. coli* OP50 (obtenida del *Caenorhabditis Genetics Center* Minneapolis, MN, EUA) (8).

Extracto: Las semillas de las plantas del género *Lupinus Mexicanus* se obtuvieron de vainas maduras colectadas de poblaciones silvestres localizadas en el Nevado de Colima. Las semillas se preservaron en envases herméticamente cerrados a 4°C, para posteriormente procesarse y obtener el extracto liofilizado de ELLM. El ELLM, fue diluido en Dimetilsulfóxido (DMSO).

Ensayos de supervivencia del *C. elegans*: Se realizó el ensayo de supervivencia al extracto liofilizado de *Lupinus Mexicanus*. Utilizamos placas costar multipocillo, en donde se colocó el grupo Control y las diferentes concentraciones: 1 mg/mL, 0.5 mg/mL, 0.1 mg/mL, 0.05 mg/mL y 0.01 mg/mL. Se colocaron 30 gusanos adultos en cada pocillo. Todos los ensayos fueron realizados por triplicado.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis se realizó empleando el software SigmaPlot 11.0. Los resultados se presentan como media \pm error estándar de la media. Para determinar diferencias entre pares de grupos se utilizó la prueba t de Student. En caso de la comparación entre más de dos grupos se empleó Análisis de Varianza (ANOVA) de una vía y la prueba post-hoc de Tukey para determinar diferencias significativas. Se consideró que una diferencia es estadísticamente significativa cuando se encontró una $P < 0.05$.

RESULTADOS

Efecto de la administración del extracto Liofilizado de *Lupinus Mexicanus* en la supervivencia del nematodo *C. elegans*: Con el fin de encontrar cual era la concentración óptima para realizar la primera evaluación del ELLM se realizó una curva de supervivencia de Kaplan-Meier, en la que se sometió a nemátodos adultos de la cepa N2 Wild Type a distintas concentraciones del extracto una alta de 1 mg/mL, una intermedia 0.5 mg/mL y la concentración más baja fue de 0.1 mg/mL. La supervivencia en nematodos expuestos a 0.1mg/mL del ELLM fue del 75% a las 5hrs de exposición y del 70% a las 24hrs, mientras que en el grupo Control la supervivencia fue del 95% a las 5hrs y del 80% a las 24hrs. Las concentraciones en las que se observó una mejor supervivencia fueron las de 0.1 y 0.5 mg/mL del extracto liofilizado de *Lupinus Mexicanus*, las cuales mostraron un comportamiento similar al grupo de nemátodos no tratados (Control) con un porcentaje de supervivencia del 95%.

CONCLUSIONES

Esta es la primera vez que se realiza este tipo de experimentos en el organismo modelo *C. elegans* con el extracto liofilizado de *Lupinus Mexicanus*, con los resultados obtenidos en esta investigación, pudimos observar que el ELLM es capaz de promover la supervivencia del nematodo *Caenorhabditis elegans*, y que es necesaria más experimentación con este extracto en el *C. elegans*, a partir de las preguntas que nos surgen con este trabajo. En este sentido proponemos, que la simplicidad y el costo-beneficio del cultivo de *C. elegans* lo hacen un efectivo modelo in vivo que provee datos de relevancia para la investigación de fitoquímicos con efectos terapéuticos o tóxicos de plantas silvestres mexicanas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bañuelos Pineda J, Ruiz López M, Soltero Quintana R, Castañeda Vázquez H. Lupinos Del Occidente De México Estudios Biologico, Bioquímico Y Toxicológico. In: Guadalajara Ud, Editor. Lupinos Del Occidente De México Estudios Biologico, Bioquímico Y Toxicológico. I. Guadalajara, Jalisco: Universidad De Guadalajara; 2006. P. 125.
2. Safer Am, Al-Nughamish Aj. Hepatotoxicity Induced By The Anti-Oxidant Food Additive, Butylated Hydroxytoluene (Bht), In Rats: An Electron Microscopical Study. *Histol Histopathol.* 1999;14(2):391-406.
3. Fallarero Linares A. Actividad Antioxidante Y Neuroprotectora In Vitro Del Extracto Acuoso Del Alga *Bryothamnion Triquetum* (Ceramiales, Rhodomelaceae). [Doctorado En Ciencias Biológicas]. Cuba: Universidad De La Habana; 2005.
4. Prahlad V, Morimoto Ri. Integrating The Stress Response: Lessons For Neurodegenerative Diseases From *C. Elegans*. *Trends Cell Biol.* 2009;19(2):52-61.

5. Johnson Jr, Jenn Rc, Barclay Jw, Burgoyne Rd, Morgan A. Caenorhabditis Elegans: A Useful Tool To Decipher Neurodegenerative Pathways. *Biochem Soc Trans.* 2010;2:559-63.
6. Kahn Nw, Rea Sl, Moyle S, Kell A, Johnson Te. Proteasomal Dysfunction Activates The Transcription Factor Skn-1 And Produces A Selective Oxidative-Stress Response In Caenorhabditis Elegans. *Biochem J.* 2008;409(1):205-13.
7. . !!! Invalid Citation !!!
8. Brenner Rm, Resko Ja, West Nb. Cyclic Changes In Oviductal Morphology And Residual Cytoplasmic Estradiol Binding Capacity Induced By Sequential Estradiol--Progesterone Treatment Of Spayed Rhesus Monkeys. *Endocrinology.* 1974;95(4):1094-104.

ESTUDIO COMPARATIVO DEL CONTENIDO DE METALES PESADOS ENTRE HORTALIZAS DE ZONAS AGRÍCOLAS CON Y SIN PROBLEMAS DE CONTAMINACIÓN DE AGUA DE RIEGO.

Andrea Ramírez Vázquez, Bernardo Gudiño Guzmán

Centro Universitario De Ciencias Exactas E Ingenierías, Universidad de Guadalajara

RESUMEN

Existe una problemática creciente debido al uso de agua contaminada en actividades agrícolas, ya que presentan niveles de metales pesados que podrían indicar bioacumulación en las hortalizas que se producen en las zonas donde se utiliza dicha agua, y por ende a los consumidores.

El objetivo de éste estudio es verificar si existe evidencia en cuanto a la variabilidad de la concentración de metales pesados en hortalizas recolectadas en tres zonas agrícolas diferentes en el centro del estado de Jalisco: Juanacatlán, Magdalena y Ahualulco del Mercado. Las comparaciones de resultados obtenidos presentan variabilidad en las hortalizas de las tres diferentes zonas agrícolas: la zona de Juanacatlán los metales con mayores concentraciones, el Zn y el Cu, en Magdalena el Zn y el Cu y en Ahualulco del Mercado el Zn y el Pb.

Es prescindible un estudio más riguroso en cuanto a los cuerpos de agua de riego que abastecen las zonas estudiadas, así como un muestreo más extenso de especímenes que lo confirmen. Sin embargo, una primera exploración muestra que, con los resultados obtenidos, podría existir evidencia de un problema de acumulación de metales pesados en los tejidos de los especímenes colectados.

INTRODUCCIÓN

La contaminación por metales pesados en plantas u hortalizas es una de las más severas problemáticas que comprometen la seguridad alimentaria y salud pública a nivel global y local debido al riego agrícola con agua que tiene problemas de concentraciones fuera de norma. Los cultivos han desarrollado mecanismos altamente específicos para absorber, traslocar y acumular nutriente, sin embargo, algunos metales y metaloides no esenciales para los vegetales son absorbidos, traslocados y acumulados en la planta debido a que presentan un comportamiento químico similar a los elementos nutritivos requeridos. Los especímenes estudiados se clasificaron, se trituraron, se molieron y se digirieron en medio ácido-oxidante. El método empleado para el análisis de metales pesados se realizó por Voltamperometría de Redisolución Anódica, en específico para zinc (Zn), Cadmio (Cd), Plomo (Pb) y Cobre (Cu).

PARTE EXPERIMENTAL

Las muestras de Juanacatlán se colectaron en parcelas que son regadas con agua del río Santiago, que se sabe por estudios previos que existe evidencia del contenido de metales pesados. En cambio las muestras de Magdalena, y Ahualulco fueron colectadas en parcelas regadas con agua de diferente procedencia.

Las muestras fueron colocadas en bolsas de plástico y rotuladas hasta su análisis en laboratorio. Una vez ahí, se separan y clasifican. Los tejidos seleccionados, se guardaron en papel estraza y se rotularon.

Posteriormente, los tejidos se trituraron y molieron. En el caso de la caña se realizó un lavado con HCl 0.1 N para eliminar el lodo. Se pesó una cierta cantidad de cada muestra, se llevó a calcinación hasta cenizas blancas. Posteriormente se hacen lavados al crisol con HNO₃, la muestra calcinada se lleva a un vaso de precipitado y se le agregan 2 mL de peróxido, se taparon con vidrio de reloj. Se ponen a digestión hasta esperar sequedad, hacer tres lavados al vidrio de reloj con HNO₃, por último se agrega HCl. Y se almacena hasta su posterior análisis.

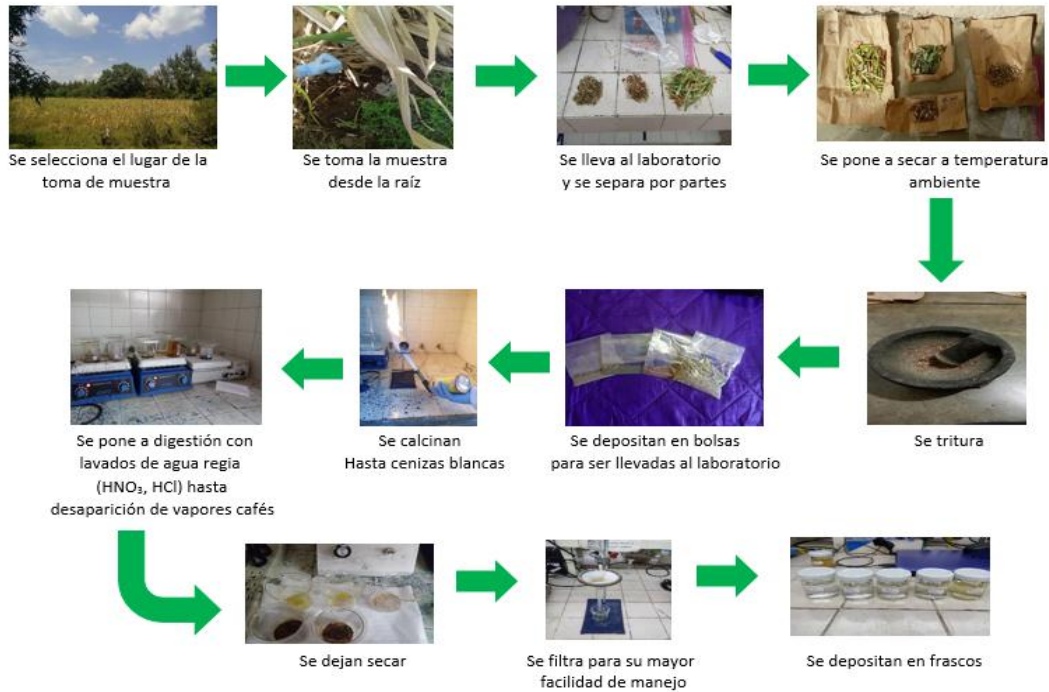


Fig. 1. Procedimiento de preparación de muestra

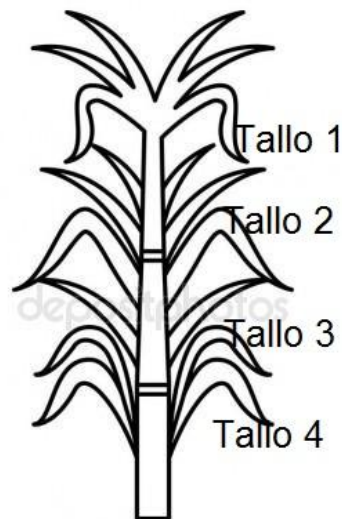


Fig. 2. Modo de Separación de la muestra de caña en partes.

La lectura de las muestras se lleva a cabo mediante 3 electrodos

Electrodo auxiliar (Carbón vítreo).

Electrodo de trabajo (gota de mercurio ya que es útil para por su amplio rango catódico).

Electrodo de referencia (Ag/AgCl/KCl) 3 Molar.

La voltamperometría de redisolución anódica puede separarse en 3 etapas:

1.- Se aplica un potencial catódico y constante, a esta etapa se le conoce como la etapa de pre-concentración). En la cual los iones metálicos que se van a determinar en este caso (Zn, Cd, Pb y Cu) se depositan electrolíticamente Sobre la gota de mercurio, teniendo un lugar la formación de una amalgama. En esta etapa se lleva a cabo con una agitación constante.

2.- Después existe un tiempo de estabilización, donde se sigue aplicando el mismo potencial de reducción durante un corto tiempo (8s) pero sin agitación.

3.- En la tercera etapa se aplica un barrido anódico de onda cuadrada para promover la oxidación o redisolución de los metales fuera de la gota de mercurio. Durante este barrido, el metal reoxidado registra diferentes intensidades de corriente siguiendo un orden en función del potencial estándar de cada metal (Zn, Cd, Pb, Cu).

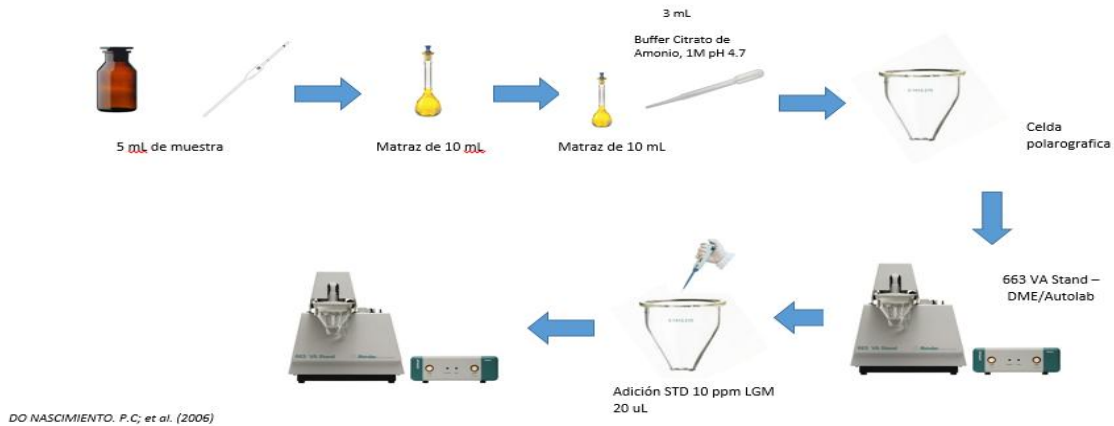


Fig. 3. ASV-SW: Voltamperetría de redisolución anódica - onda cuadrada.

RESULTADOS

Las muestras analizadas fueron tomadas de 3 diferentes zonas:

Juanacatlán, Magdalena, Ahualulco del Mercado. Los metales estudiados fueron seleccionados a la especificidad del método analítico.

Al analizar los datos después de las lecturas en el polarografo, y con ello encontrar las concentraciones presentes en cada metal en las diferentes zonas se puede observar lo siguiente:

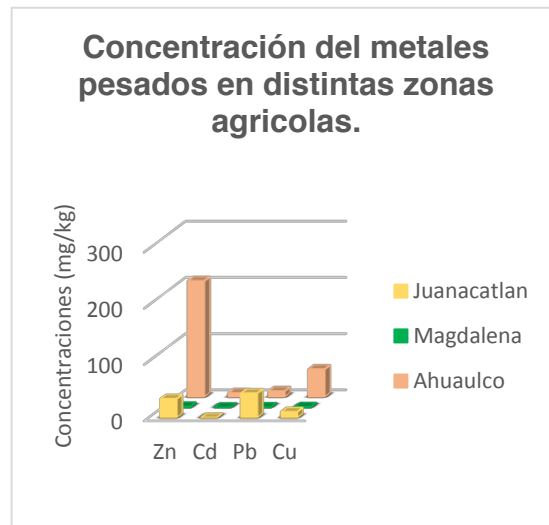
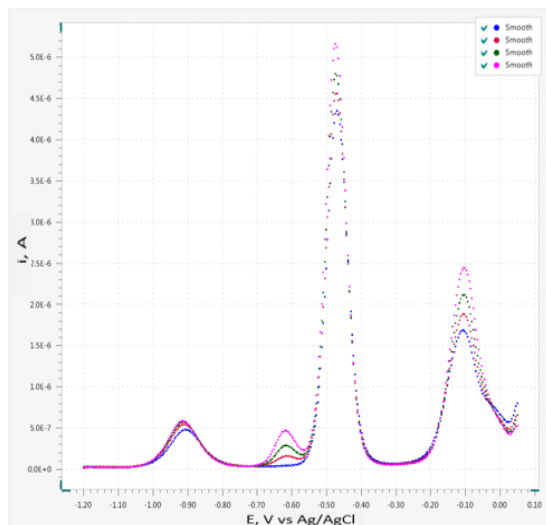


Imagen. A. Muestra de Caña (Tallo 1). Voltamperograma de la entidad de Juanacatlán. Gráfico de concentraciones de los metales pesados de distintas entidades.

En la concentración del metal del Plomo (Pb) se encuentra en Juanacatlán y el Cobre (Cu) en Ahualulco.

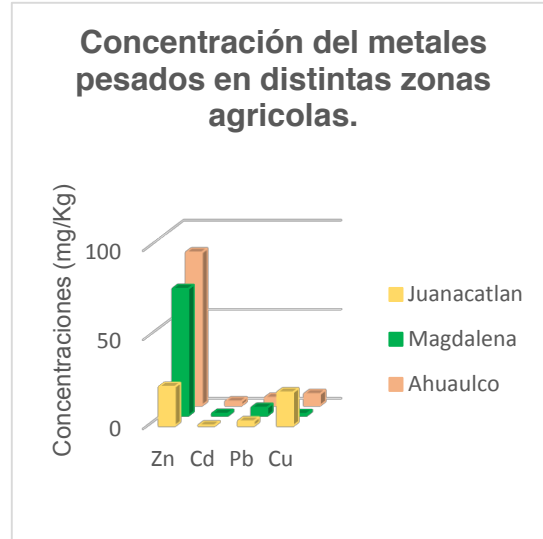
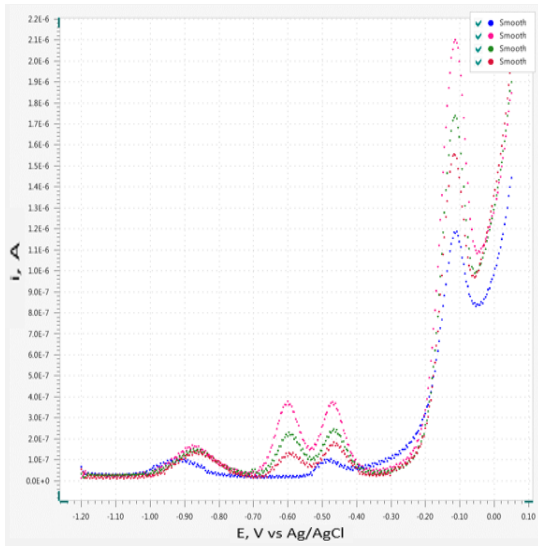


Imagen. B. Muestra de Caña (Tallo 2). Voltamperograma de la entidad de Ahualulco. Gráfico de concentraciones de los metales pesados de distintas entidades.

La mayor cantidad de Plomo (Pb) fue en la zona de Magdalena y en cuanto a al Cobre (Cu) fue en la zona de Juanacatlán.

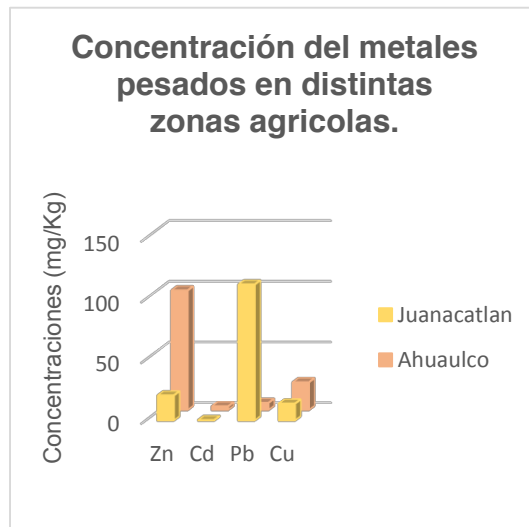
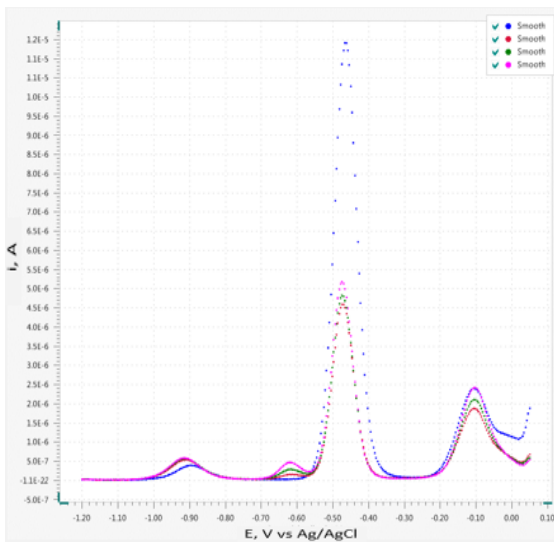


Imagen. C. Muestra de Caña (Tallo 3). Voltamperograma de la entidad de Juanacatlán. Gráfico de concentraciones de los metales pesados de distintas entidades.

Donde se nota un alto el incremento de Plomo (Pb) en Juanacatlán, y en el caso del Cobre (Cu) se encuentra en Ahualulco.

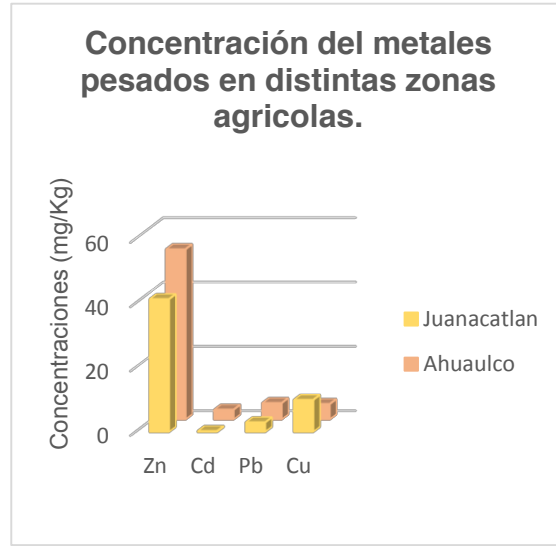
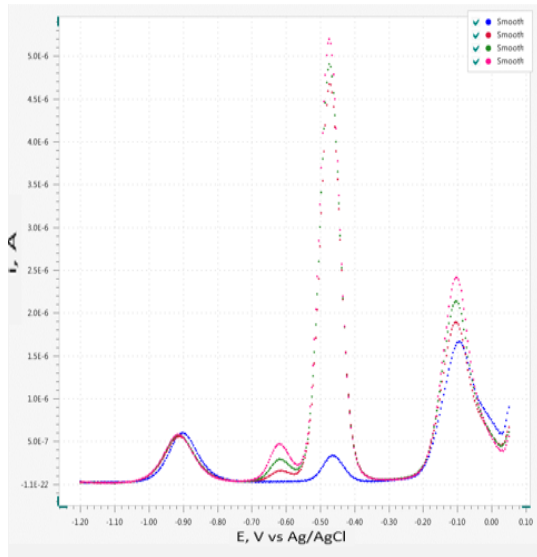


Imagen D. Muestra de Caña (Tallo 4). Voltamperograma de la entidad de Juanacatlán. Gráfico de concentraciones de los metales pesados de distintas entidades.

En este caso se nota que se encuentra en mayor concentración de Plomo (Pb) es en Ahualulco y con el Cobre (Cu) en Juanacatlán.

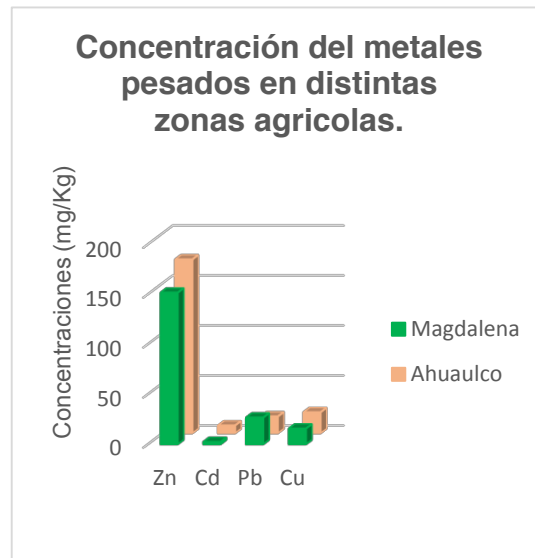
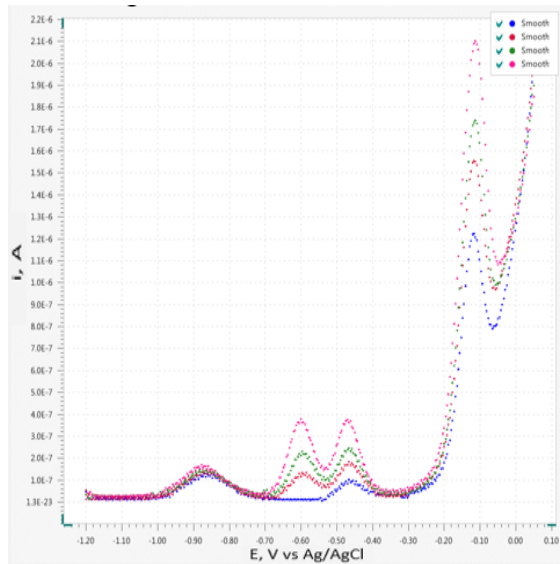


Imagen E. Muestra de Caña (Hojas). Voltamperograma de la entidad de Ahualulco. Gráfico de concentraciones de los metales pesados de distintas entidades.

En las muestras las concentraciones del Plomo (Pb) están en Magdalena y del Cobre (Cu) en Ahualulco.

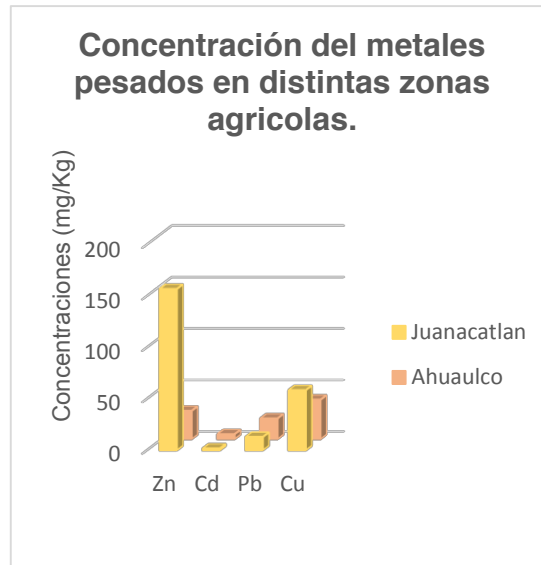
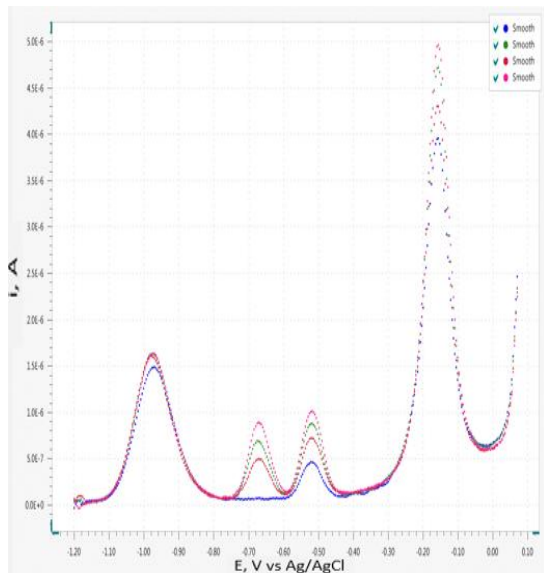


Imagen. F. Muestra de Sorgo (Hojas). Voltamperograma de la entidad de Juanacatlán. Gráfico de concentraciones de los metales pesados de distintas entidades.

El Plomo (Pb) se encuentra en mayor concentración en la zona de Ahualulco y Cobre (Cu) en Juanacatlán.

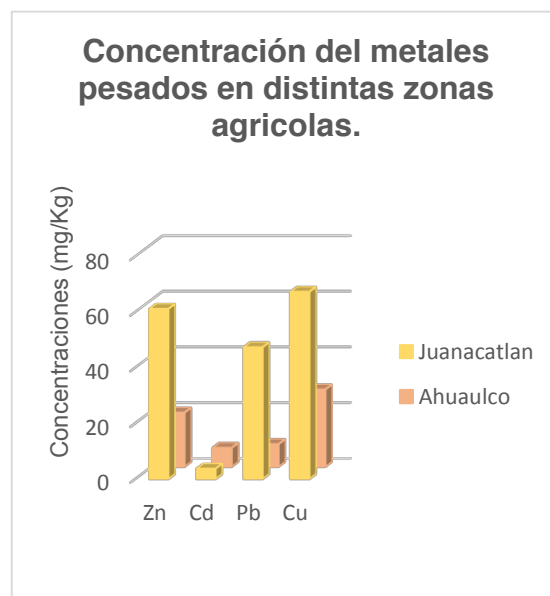
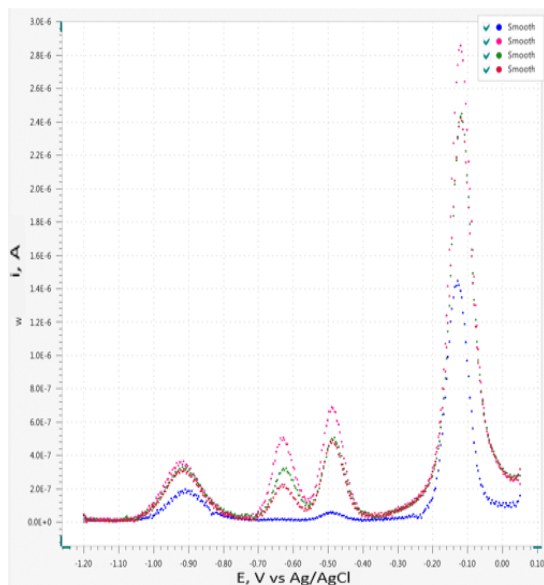


Imagen. G. Muestra de Sorgo (Raíz). Voltamperograma de la entidad de Ahualulco. Gráfico de concentraciones de los metales pesados de distintas entidades.

En este caso las concentraciones como del Plomo (Pb) y el Cobre (Cu) es dentro de la zona de Juanacatlán.

CONCLUSIONES

Es prescindible un estudio más riguroso en cuanto a los cuerpos de agua de riego que abastecen las zonas estudiadas, así como un muestreo más extenso de especímenes que lo confirmen. Sin embargo, una primera exploración muestra que, con los resultados obtenidos, podría existir

evidencia de un problema de acumulación de metales pesados en los tejidos de los especímenes colectados. Un metal muy importante, en un alto nivel encontrado es el Plomo (Pb) presentada en el agua utilizada para riego agrícola.

Las comparaciones de resultados obtenidos presentan variabilidad en las hortalizas de las tres diferentes zonas agrícolas: la zona de Juanacatlán los metales con mayores concentraciones, el Zn y el Cu, en Magdalena el Zn y el Cu y en Ahualulco del Mercado el Zn y el Pb.

BIBLIOGRAFÍA

1. Reyes, Y.C; Vergara, I; Torres, O.E; Díaz-Lagos, M; & González, E.E (2016). Contaminación por metales pesados: Implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria. Revista Ingeniería Investigación y Desarrollo, Bogotá, Colombia. 16 (2), pp. 66-67.
2. Last MM; 2000. The use of plants for the removal toxic metals from contaminated soil. American Association for the Advancement of Science, Environmental science and Engineering Fellow, pp.33.
3. Gudiño, G. B. 2017. Evaluación del tratamiento por electrocoagulación para la remoción de metales pesados en el agua del canal "La Aurora". Juanacatlán, Jal. Universidad de Guadalajara, México.
4. Angelova V; Ivanova, R, Delibaltova, V. and Ivanov, K. 2004. Bio-accumulation and distribution of heavy metals in fiebre crops (flax cotton and hemp). Industrial crops and products, 19:197-205.
5. Alloway, B.J 1995. Cap 3: The origin of the heavy metals in soils. In: Alloway, B.J (ed.). Heavy metals in soils. Blackie Academic and Professional, London, 2da. Edition. pp. 38-57

RENDIMIENTO Y CALIDAD DEL FRUTO DE JITOMATE CHERRY CON CULTIVO INTERCALAR DE BORRAJA.

Darynka Nahomi Acosta López, María Socorro Orozco Almanza, Roberto Ramos González y María de Jesús Rojas Cortés

Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

RESUMEN

La polinización es un proceso importante en la producción de hortalizas, consiste en la transferencia de polen de las anteras al estigma del pistilo de la flor a través de factores naturales como el viento, agua, gravedad, o transporte por murciélagos, colibríes e insectos como las abejas. La falta de una polinización exitosa puede reducir el rendimiento de los cultivos, y provocar frutos deformes, como en el pepino, o con un tamaño o forma irregular, como en jitomate de diferentes variedades. El objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad de frutos de jitomate cherry (*Lycopersicon esculentum* L.) intercalados con borraja (*Borago officinalis* L.), una planta melífera atractora de abejas. El cultivo se realizó a cielo abierto en dos parcelas de 6 m²: 1) Policultivo (10 plantas de jitomate cherry + 6 plantas de borraja, y 2) Monocultivo (10 plantas de jitomate cherry). Se utilizó bocashi como abono orgánico. La borraja como cultivo intercalar, no mejoró el rendimiento de los frutos, pero incrementó su contenido en grados Brix, así mismo los frutos presentaron una correlación positiva entre el tamaño y el peso lo cual los hace más atractivos para el consumidor. Las plantas en el policultivo, presentaron una correlación positiva entre la altura y el diámetro, lo cual representa una mayor estabilidad para las plantas así como una mejor morfología.

INTRODUCCIÓN

Los crecientes niveles de deterioro de los ecosistemas han obligado a la sociedad a buscar alternativas de producción más amigables con el medioambiente. Se han generado alternativas sustentables y ecológicas, destacando la Agricultura Orgánica con un creciente desarrollo, tanto en el ámbito nacional como mundial (Anónimo, 2013).

El Codex Alimentarius define agricultura orgánica como un sistema holístico de producción que promueve y mejora la salud del agroecosistema, incluyendo la biodiversidad, los ciclos biológicos y la actividad biológica del suelo, prefiriendo el uso de prácticas de manejo dentro de la finca al uso de insumos externos a la finca, tomando en cuenta que condiciones regionales requieren de sistemas adaptados a las condiciones locales. Esto se logra utilizando en lo posible métodos culturales, biológicos y mecánicos en oposición a materiales sintéticos para satisfacer cualquier función específica dentro del sistema (Codex, 1999).

De este modo la agricultura orgánica es una alternativa propicia para sustituir la agricultura convencional, ya que es bien sabido que los plaguicidas químicos, ampliamente usados por esta última, generan un impacto ecológico sobre los ecosistemas. En este sentido, los polinizadores, también son afectados por este tipo de prácticas (Pantoja *et al.*, 2014).

La cantidad y la calidad de una cosecha se encuentran limitadas por múltiples factores. La falta de agua o nutrientes y la incidencia de plagas o malezas pueden reducir el número y tamaño de los frutos, otro factor que condiciona el rendimiento de las cosechas es la polinización, que es la transferencia de polen de los órganos masculinos de la flor a los femeninos, lo que hace posible la formación de frutos y semillas. En muchos casos la polinización es el resultado de la actividad de animales polinizadores como abejas, abejorros y colibríes, cuya ausencia o escasez también puede limitar el rendimiento de ciertos cultivos (Garibaldi *et al.*, 2012).

La polinización es un proceso esencial para el mantenimiento de la viabilidad y la diversidad genética de las plantas con flor, además de mejorar la calidad y cantidad de semillas y frutos, así como de las características de la descendencia (García *et al.*, 2016). Se ha estimado que el 70% de los cultivos incrementa en mayor o menor medida su producción cuando sus flores son visitadas por polinizadores (Garibaldi *et al.*, 2012).

El cultivo de jitomate cherry es de fertilización cruzada por lo que se requiere de polinizadores para que ésta se a exitosa, por lo que es importante la presencia de plantas atractoras de polinizadores en los huertos urbanos o agroecosistemas rurales.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la borraja (*Borago officinalis* L.), como planta atractora de polinizadores, en un policultivo con jitomate cherry (*Lycopersicon esculentum* L.), con el fin de incrementar su rendimiento y calidad del fruto.

TEORÍA

La agricultura orgánica intenta proporcionar un medio ambiente balanceado, rendimiento y fertilidad suelo sostenido y control natural de plagas, mediante el diseño de agroecosistemas diversificados y el empleo de tecnologías auto-sostenidas. Las estrategias se apoyan en conceptos ecológicos, de tal manera que el manejo da como resultado un óptimo reciclaje de nutrientes y materia orgánica, flujos cerrados de energía, poblaciones balanceadas de plagas y un uso múltiple del suelo y del paisaje. La idea es explotar las complementariedades y sinergias que surgen al combinar cultivos, árboles y animales en diferentes arreglos espaciales y temporales (Altieri *et al.*, 2000).

Un paisaje heterogéneo, en el que se mezclan áreas agrícolas y naturales, puede beneficiar a los polinizadores debido a una mayor diversidad de posibilidades alimentarias y de nidificación. A su vez, mayor diversidad y abundancia de polinizadores en esos paisajes puede proveer servicios a más cultivos. Para estos propósitos resulta recomendable conservar los hábitats naturales, manejar los seminaturales (por ejemplo, los bordes de los cultivos) y promover, en general, la diversificación del paisaje agrícola (por ejemplo, mayor variedad de cultivos) (Garibaldi *et al.*, 2012).

El mercado de alimentos y productos orgánicos se desarrolla y expande de manera muy acelerada. En respuesta a la demanda externa, México comenzó en el decenio de los noventa a desarrollar con rapidez sistemas orgánicos de producción, sobre todo en productos tropicales y de invierno que no se pueden cultivar en otros países (Gómez *et al.*, 2003).

Además de que día con día, los consumidores están más interesados en conocer la forma de producción de los alimentos que van a degustar, en especial, los consumidos en fresco, como las hortalizas, prefiriendo aquellos libres de agroquímicos, inocuos y que cuenten con un alto valor nutricional, sin dejar a un lado la armonía con el medio ambiente (Márquez y Cano, 2005).

La agricultura orgánica es una actividad que puede generar ingresos importantes, si se proyecta adecuadamente la comercialización en el mercado nacional e internacional. El jitomate cherry tiene una demanda a nivel mundial debido a su valor tanto en el mercado gourmet como en el mercado convencional, sin embargo para su cultivo hay que tener en cuenta que las heladas y el calor excesivo pueden dificultar su buen desarrollo en esas épocas. Para subsanar estos inconvenientes, es imprescindible la adopción de nuevas tecnologías, como ser el cultivo en invernadero, el uso de mallas plásticas que intercepten más del 50 % la luz del sol, y mejorar el sistema de riego (Villasanti, 2013).

En la naturaleza las diversas interacciones ecológicas son mediadas por señales visuales, olfativas, acústicas y térmicas. . Específicamente, las plantas emplean la forma, el color, la estructura y textura, el néctar y los aromas florales para su defensa y reproducción (Grajales-Conesa *et al.*, 2011). Las plantas con flores llamativas y nectaríferas son de gran interés ya que estas promueven la presencia de fauna asociada en los agroecosistemas urbanos y rurales, que por un lado otorgan polinizadores y por otro lado enemigos naturales para las plagas. Dentro de estas plantas se encuentra la borraja (*Borago officinalis* L.) que además de atraer polinizadores es una tiene propiedades medicinales, la principal es su capacidad depurativa de todo el sistema digestivo e incluso llega a limpiar el torrente sanguíneo (Elorza, 2016), por lo que su inserción en agroecosistemas productivos puede ser una herramienta importante para la conservación y mantenimiento de la biodiversidad además de ser un promotor en el incremento de la producción.

PARTE EXPERIMENTAL

El cultivo se llevó a cabo durante el otoño-invierno de 2017, a cielo abierto, en el Centro de Capacitación en Agricultura Urbana "Chimalxochipan", dentro de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM que se encuentra en la delegación Iztapalapa, Ciudad de México. Ubicada en las coordenadas geográficas 19° 22' 04.64" Longitud Oeste a una altitud de 2249 msnm, presenta un clima templado subhúmedo con temperaturas entre 10° y 18°C y de 18° a 22°C con precipitaciones de 600 a 1000 mm en promedio durante el año.



Fig. 1. Parcelas dentro del Centro de Capacitación en Agricultura Urbana "Chimalxochipan" asignadas para los cultivos de jitomate cherry.

El jitomate se propagó por semillas y su siembra fue en almácigos y, la borraja de forma asexual por separación de matas. Las plántulas de jitomate cherry y las de borraja se trasplantaron a parcelas de 6m² que fueron previamente abonadas (5 kg/m²). En cada parcela se establecieron los tratamientos por separado 1. Plantas de jitomate cherry asociado a borraja y 2. Monocultivo de jitomate cherry) (Fig. 1).



Fig. 2. Policultivo de jitomate cherry con borraja (izquierda) y monocultivo de jitomate cherry (derecha).

El riego fue por goteo, se administró durante la época vegetativa (1litro/planta) de manera abundante hasta su cosecha, aplicando durante la floración y fructificación (2 litros/planta). Las plantas se abonaron cada 15 días con 250 g de bocashi y 10 g de ceniza por planta. Para mejorar la floración se rociaron con té de potasio (té de cáscaras de plátano) (Huautla y Vargas, 2016).

Para prevenir la presencia de plagas (mosca blanca y pulgón rojo) se aplicó quincenalmente un biopreparado de ortiga al 10% y para corregir la plaga se aplicó una solución de jabón roma al 5%. Durante todo el invierno se implementó en cada parcela un recubrimiento con plásticos blancos lechosos para evitar que las heladas afectaran las plantas (Fig. 3).



Fig. 3. Plantas de jitomate cherry protegidas con plástico durante el invierno.

Se evaluaron quincenalmente en ambas parcelas las siguientes variables de respuesta: altura, diámetro del tallo principal, tiempo medio de floración, número de flores/planta, tiempo medio de fructificación, número de frutos por planta, número de racimos por planta así como el número de frutos por racimo, rendimiento/área y contenido de nitratos y grados Brix en fruto (Fig. 4).



Fig. 4. Floración y fructificación del jitomate cherry.

Las variables de respuesta se analizaron en un ANOVA completamente al azar, y las medias se compararon por la prueba de diferencia mínima de Tukey-Kramer ($p \leq 0.05$). Programa NCSS versión 7.

RESULTADOS

La altura y la TCR (tasa de crecimiento relativo) de las plantas de jitomate cherry no presentaron diferencias significativas ($p \geq 0.05$) (Fig. 5 y Fig. 6) entre tratamientos. Las plantas alcanzaron una altura de 1.20 m en promedio, hasta el quinto racimo. Barraza *et al.* (2004), reporta un crecimiento semejante al de nuestros tratamientos, menciona que al incrementar la densidad de población, se producen plantas más largas.

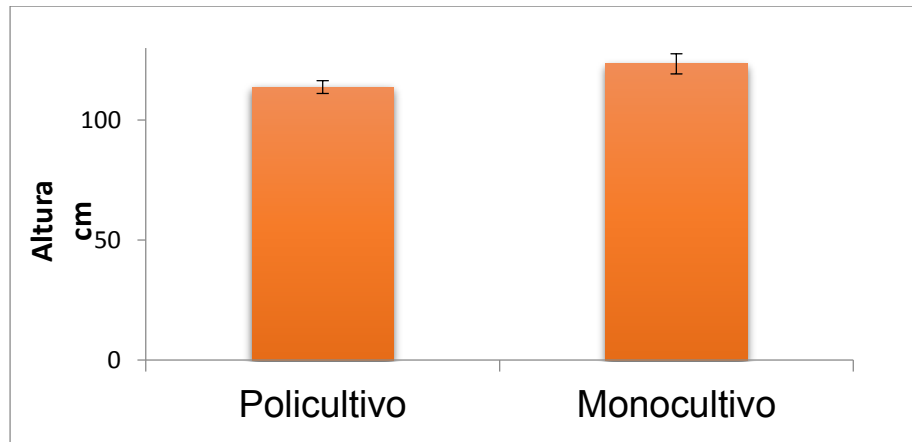


Fig. 5. Altura de las plantas de jitomate cherry en mono y policultivo. Literales diferentes sobre las barras, representan diferencias significativas ($p \geq 0.05$). ANOVA $F = 3.79$, $P = 0.067$.

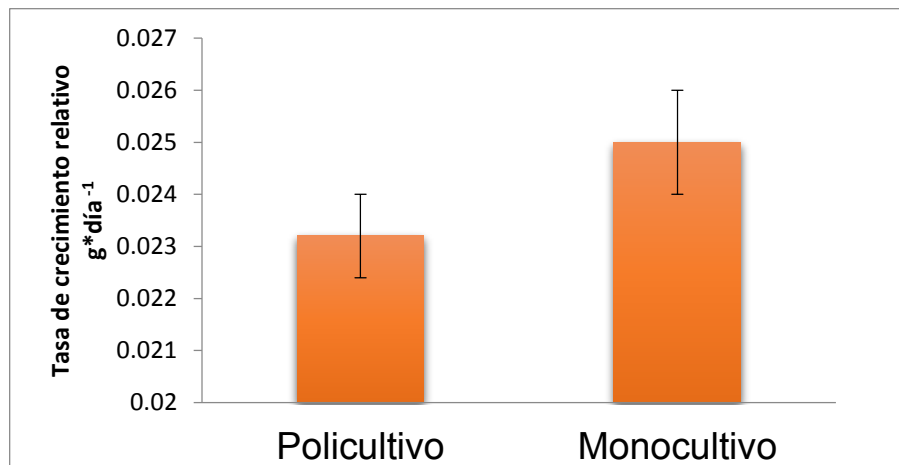


Fig. 6. Tasa de crecimiento relativo de las plantas de jitomate cherry en mono y policultivo. Literales diferentes sobre las barras, representan diferencias significativas ($p \geq 0.05$). ANOVA $F = 1.67$ $P = 0.2323$.

El diámetro del tallo principal, presentó diferencias significativas ($p \leq 0.05$), entre tratamientos. Este valor fue mayor en las plantas del monocultivo y menor en el policultivo (Fig. 7); sin embargo se presentó una correlación positiva en el policultivo entre la altura y el diámetro, incrementándose por cada unidad de altura el diámetro del tallo (Fig. 8a), lo cual representa un mayor vigor en las plantas del policultivo (Orozco *et al.*, 2010). En el monocultivo la correlación fue negativa (Fig. 8b).

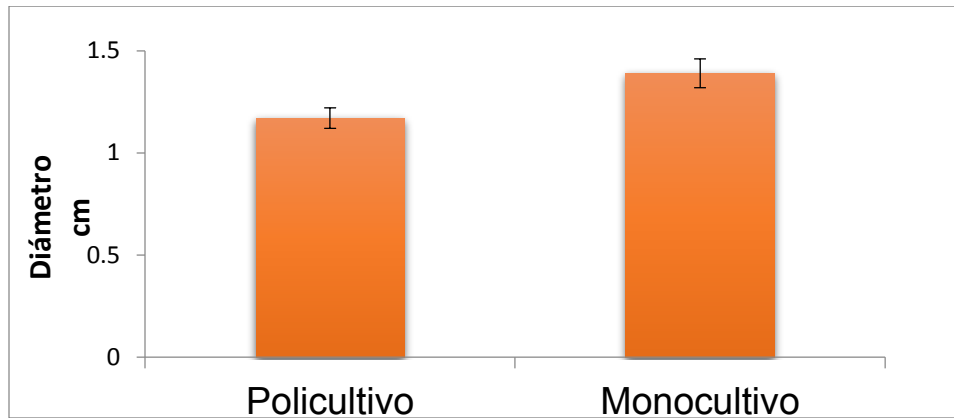


Fig. 7. Diámetro del tallo en las plantas de jitomate cherry en mono y policultivo. Literales diferentes sobre las barras, representan diferencias significativas ($p \leq 0.05$). ANOVA $F=14.05$ $P=0.0014$.

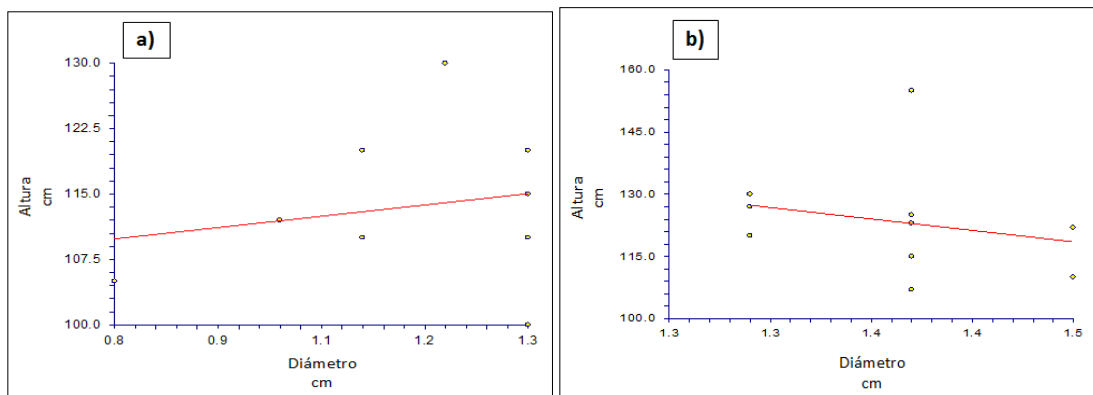


Fig. 8. a). Correlación de altura vs diámetro del tallo en plantas de jitomate cherry en policultivo = 0.2093, correlación positiva. b) Correlación de altura vs diámetro del tallo en plantas de jitomate cherry en monocultivo = -0.2497, correlación negativa.

El índice de Dickson presentó diferencias significativas ($p \leq 0.05$), resultando mejor en el policultivo (Fig. 9).

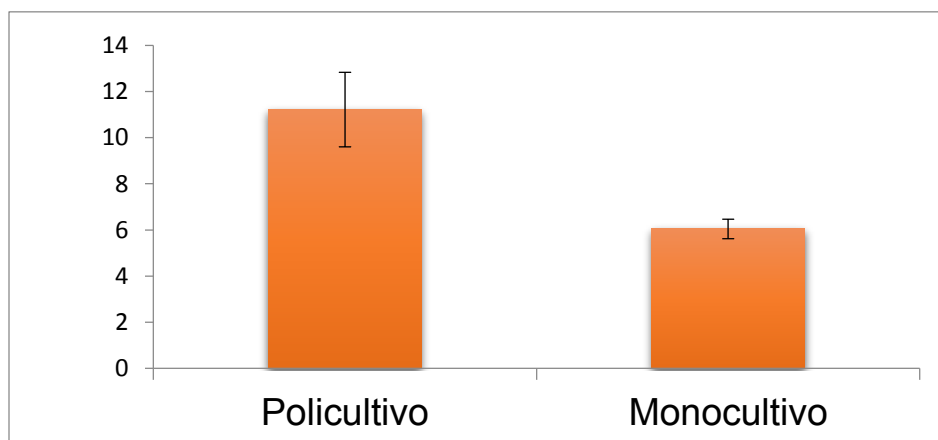


Fig. 9. Índice de Dickson para plantas de mono y policultivo. Literales diferentes sobre las barras, representan diferencias significativas ($p \leq 0.05$). ANOVA $F=9.62$ $P=0.0146$.

La floración se presentó 10 días antes que en el monocultivo, a los 35 ddt, y el número de flores, el tiempo medio de fructificación, el número de frutos por planta y por racimo, el peso de los frutos y el rendimiento, no presentaron diferencias ($p \geq 0.05$) entre tratamientos, pero el tamaño del fruto si presentó diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Atributos del rendimiento del jitomate cherry en mono y policultivo.

	POLICULTIVO	MONOCULTIVO
Tiempo medio de floración (días)	35	45
Número de flores	475 \pm 2.4	482 \pm 2.5
Tiempo medio de fructificación (días)	84	84
Número de frutos	418 \pm 3.16	433 \pm 3.28
Peso de frutos (g)	8 \pm 1.21	9 \pm 1.53
Tamaño promedio de los frutos (cm)	2.25 \pm 0.07	2.63 \pm 0.08
Rendimiento Kg/m ²	0.58	0.78

El peso del fruto en ambos tratamientos, presentó una correlación positiva entre diámetro polar y peso (Fig. 10 a y b). Esto representa en ambos casos frutos con una morfología casi redonda y por lo tanto más atractivos para el mercado.

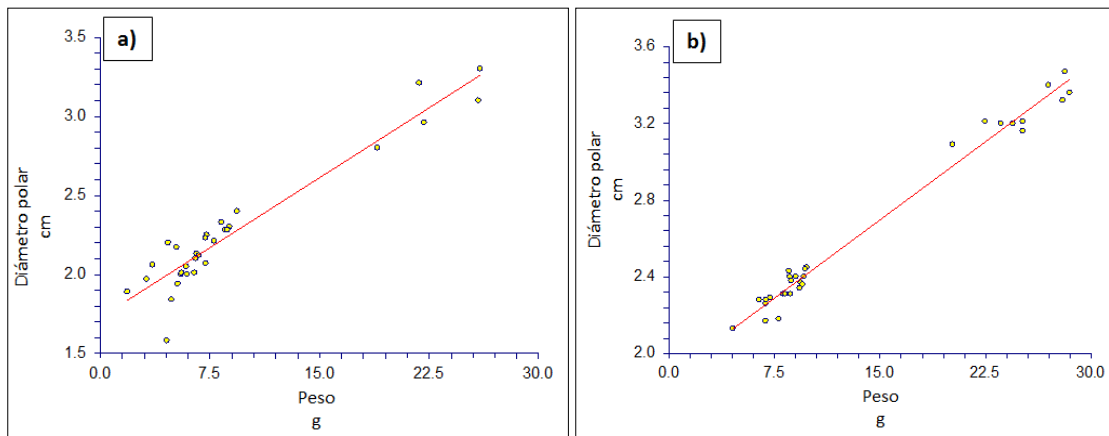


Fig. 10. a) Correlación del peso vs diámetro polar de frutos del policultivo = 0.95 alta correlación, positiva. b) Correlación del peso y diámetro polar de frutos del monocultivo = 0.99, alta correlación positiva.

Los grados Brix, presentaron diferencias estadísticas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos. El policultivo presentó frutos con 7.9 grados brix, mientras el monocultivo presentó 6 (Fig.11). Los resultados de grados Brix con el policultivo son similares a los reportados por Márquez y Cano (2005).

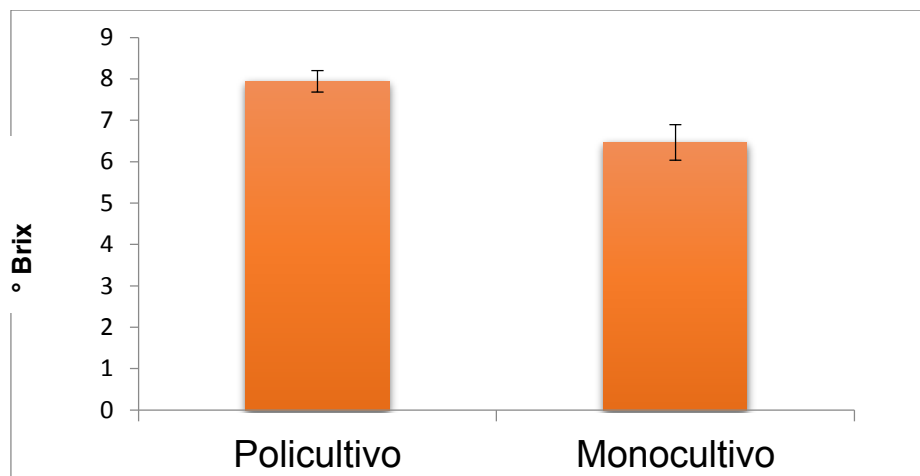


Fig. 11. Grados Brix para los frutos del mono y policultivo. Literales diferentes sobre las barras, representan diferencias significativas ($p \leq 0.05$). ANOVA $F=8.41$ $P=0.0095$.

CONCLUSIONES

La borraja como planta intercalar en el cultivo del jitomate cherry, favorece la morfología de la planta, donde se presenta un mejor equilibrio entre su altura, diámetro del tallo y peso seco de tallo y raíz. El cultivo intercalar, mejora la relación entre el desarrollo del tallo y el diámetro al presentar una correlación positiva entre ambos.

El rendimiento por planta no se mejora en el policultivo, pero si los grados Brix, los cuales aumentan en casi dos unidades, lo que representa frutos más dulces.

La borraja como planta atractora de abejas, mejoró la calidad morfológica de las plantas así como el contenido de azúcares en el fruto.

BIBLIOGRAFÍA

1. Altieri, M., & Nicholls, C. 2000. Teoría y práctica para una agricultura sustentable. *Serie Textos Básicos para la Formación Ambiental*, 1.
2. Anónimo. 2013. Agricultura orgánica nacional. Bases técnicas y situación actual. Servicio Agrícola y Ganadero, Chile.
3. Barraza, F., Gerhard, F., & Cardona, C. 2004. Estudio del proceso de crecimiento del cultivo del tomate. *Agronomía Colombiana*, 22(1), 81-90.
4. Codex Alimentarius. 1999. Guidelines for the production, processing, labeling and marketing of organic produced products. GL-32 – 1999.
5. Elorza, M. 2016. Cultivo de huertos y practicas asociadas. Recuperado de <http://www.munistgo.info/medioambiente/wp-content/uploads/2016/10/Cultivo-de-un-huerto.pdf>
6. García, M., Ríos, L. & Álvarez del Castillo, J. 2016. La polinización en los sistemas de producción agrícola: revisión sistemática de la literatura. *Idesia (Arica)*, 34(3), 53-68.
7. Gómez, M., Tovar, L., & Schwentesius, R. 2003. México como abastecedor de productos orgánicos. *Comercio exterior*, 53(2), 128-138.
8. Márquez C. & Cano P. 2005. Producción orgánica de tomate cherry bajo invernadero. *Actas Portuguesas de Horticultura No. 5*, Vol 1: 219-224.
9. Grajales-Conesa, J., Meléndez-Ramírez, V. & Cruz-López, L. 2011. Aromas florales y su interacción con los insectos polinizadores. *Revista mexicana de biodiversidad*, 82(4), 1356-1367.
10. Hernández, V., Nieto, A., & Navarro, L. 2011. *Cultivo del tomate en hidroponia e invernadero*. México: Mundi-Prensa.

11. Huautla, A. & Vargas, J. 2016. Cultivo orgánico de melón (*Cucumis melo* L. var. *cantalipensis*) en un sistema de tutorado. Tesis que para obtener el título de Licenciatura en Biología. Facultad de Estudios Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México
12. Márquez, C., & Cano, P. 2005. Producción orgánica de tomate cherry bajo invernadero. *Actas Portuguesas de Horticultura*, 5(1), 219-224.
13. Pantoja, A.; Smith-Pardo, A.; García, A.; Sáenz, A. & Rojas, F. 2014. Principios y avances sobre polinización como servicio ambiental para la agricultura sostenible en países de Latinoamérica y El Caribe. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura - FAO. Santiago, Chile.
14. Garibaldi, C., Ashworth, Chacoff, N., y Aizen, M. 2012. Los polinizadores en la agricultura. Vol. 21 Número 126, 35-43 pp.
15. Villasanti, C. 2013. El cultivo de tomate con buenas prácticas agrícolas en la agricultura urbana y periurbana. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-i3359s.pdf>

APROVECHAMIENTO DEL ÁRBOL DE *PACHIRA AQUATICA* (Aubl.) EN ALGUNOS ESTADOS DE LA REPÚBLICA MEXICANA.

Nancy C. Torres-Corona¹, Beatriz González-Hidalgo², Ma. Teresa Núñez-Cardona¹ y José A. Viccon-Pale¹.

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. ¹Departamento del El Hombre y su Ambiente, ²Departamento de Producción Agrícola y Animal.

RESUMEN

México es uno de los países megadiversos en donde su población indígena posee el conocimiento tradicional que se le da a la biodiversidad el cual debe rescatarse para formalizarlo y contar, entre otras cosas, con alternativas para la alimentación y salud. Mediante estudios etnobotánicos es posible contar con información sobre el uso que las poblaciones humanas le dan a los recursos naturales vegetales, un ejemplo de ellos es *Pachira aquatica* (Malvaceae). El objetivo de este trabajo de investigación fue recopilar información bibliográfica sobre la distribución, cómo y para qué se utiliza y aprovecha a *Pachira aquatica* en México. Este árbol se distribuye en regiones tropicales húmedas de América, desde México hasta el Noreste de Brasil. En México, se han reportado ejemplares en Veracruz, Tabasco, Campeche, Quintana Roo, Colima, Guerrero, Jalisco, Nayarit, Chiapas y Oaxaca. Se aprovechan, como alimento, sus hojas jóvenes y flores, de las primeras también se obtiene un antídoto contra envenenamiento por animales. Con la pulpa que está debajo del tronco se trata urticaria y como cicatrizante, también para la purificación de la sangre; las semillas son consumidas como nueces y tostadas se utilizan para preparar bebida de chocolate; el tronco es apreciado por carpinteros. En regiones como El Camarón (Mixtequilla, Veracruz), el fruto (con y sin semillas) se utiliza para el control de diabetes, para esta también, se hace infusión de las raíces en Oaxaca, Puebla, Veracruz y Yucatán, en dichas regiones se le conoce como apompo o zapotal. Indudablemente la información disponible de *P. aquatica* es basta, sin embargo en México lo referente a la etnobotánica es escasa, por lo que abre una pauta para investigaciones posteriores, especialmente para aprovecharlo en la medicina y alimentación de manera formal.

Palabras clave *Pachira aquatica*, apompo, zapotal, medicina, México.

INTRODUCCIÓN

En México, por la gran riqueza cultural de sus regiones tropicales es posible adoptar, líneas de investigación sobre el aprovechamiento de los recursos naturales basadas en experiencias empíricas locales y regionales de al menos una veintena de grupos étnicos y de campesinos mestizos, pues estas culturas guardan un caudal de conocimiento tradicional sobre el uso y manejo de los recursos del trópico (Toledo *et al.*, 1978). En México es notable la riqueza sobre conocimientos de las comunidades rurales e indígenas sobre sus recursos por ello, en los últimos años numerosos investigadores han enfocado sus estudios a las culturas tradicionales revalorando, especialmente, aquellos conocimientos que tienen alguna relación con los recursos naturales, su uso, manejo y conservación. Estas investigaciones se han centrado principalmente en conocimientos heredados por generaciones y que son la base de la apropiación de bienes naturales por parte de las sociedades actuales. Estas culturas son las que le imprimen un valor agregado a sus recursos naturales y los productos generados, que utilizan para satisfacer una amplia gama de bienes y servicios como la salud, alimentación, medicina entre otras.

De acuerdo con Boada & Toledo (2003) México ocupa el tercer lugar biológicamente más rico del planeta, por ejemplo, se han registrado cerca de 25 mil especies de plantas vasculares, se estima que la lista llegará a 30 mil y casi la mitad de las especies son endémicas del país (Rzedowski, 1991a, 1991b; Toledo 1993; Llorente y Ocegueda, 2008). Las poblaciones campesinas e indígenas están ampliamente distribuidas por su territorio y buena parte del potencial que encierra la biodiversidad, se encuentra en manos de las comunidades rurales (ejidos y comunidades indígenas) en estas sociedades. Las interacciones que se crean entre las personas y plantas, a través del tiempo y en ambientes distintos es el principal objeto de estudio de la etnobotánica, la cual incluye el uso, manejo y conservación de los recursos naturales, en particular de la flora (Hernández, 1983). La etnobotánica puede definirse como la relación estrecha entre plantas y humanos. El conocimiento de las plantas se basa en creencias y experiencias que se heredan y han respaldado

a la medicina tradicional, en esta, se entrelazan conocimientos de diferentes disciplinas, entre otras, como: botánica, química, medicina, farmacología, toxicología, nutrición, agronomía, ecología, sociología, antropología, lingüística, historia y arqueología; lo cual amplía los enfoques y aplicaciones (Alexiades, 1996; Martín, 2001).

En México el uso de las plantas medicinales está ampliamente difundido y muchas de estas son comercializadas a nivel nacional e internacional; se han empleado como materia prima para la elaboración de infusiones, té y jugos tradicionales, sin dejar a un lado su importancia en la industria farmacéutica. La Organización Mundial de la Salud (OMS, 1979) definió a la planta medicinal como cualquier especie vegetal que contiene sustancias que pueden ser empleadas para propósitos terapéuticos o cuyos principios activos puedan servir como precursores para la síntesis de fármacos. En cuanto a *Pachira aquatica*, de esta se ha utilizado la raíz, corteza, hojas, fruto y semillas, Martínez Maximino (1939), en su obra Plantas Medicinales de México, cita que de *Pachira aquatica* la semilla es comestible y su tronco es usado como combustible (citado en Caballero *et al.*, 1978). Algunos autores informan que se utiliza para tratar algunas enfermedades que incluye: disentería, diabetes, infecciones en la piel y picadura de insectos, así como para alimentación (Alvarez-Quiroz *et al.*, 2017; Martínez-Alfaro *et al.*, 2001; Chizmar-Fernández *et al.*, 2009; Aguilar y Xolalpa, 2002). El objetivo de este trabajo de investigación fue compilar información bibliográfica, de cómo y para qué se utiliza y aprovecha a *Pachira aquatica* en México.

TEORIA

Descripción de Pachira aquatica.

Pachira aquatica se le ha ubicado dentro de la familia Bombacaceae y actualmente dentro de las Malvaceae. Es un Árbol deciduo de tamaño de 10 a 15 m de altura, su tronco es grueso y cilíndrico; de corteza café. Las hojas digitadas, alternas, generalmente con 4 a 7 folíolos de hasta 22 por 6 cm, de forma elíptica y peciolo articulado de hasta 15 cm de largo. Las flores son vistosas, solitarias, de pétalos largos color crema, así como numerosos estambres rojos y amarillos. Como se muestra en la figura 1b, el fruto es similar a un zapote de gran tamaño, (por ello en algunos lugares se le conoce como zapote de agua o zapotal), este, tiene forma de cápsulas subglobosas, que alcanzan hasta 22 cm de largo y cuando están secos se abren en cinco partes y arrojan semillas redondas (figura 1) (Ospina, 2010; Niembro-Rocas *et al.*, 2010). En México *Pachira aquatica* tiene un periodo de floración de diciembre a agosto mientras que el periodo de fructificación es de enero a septiembre (Pennington y Sarukhán, 2005).



Fig. 1. Árbol, hoja, flor y fruto de *Pachira aquatica*.

Dependiendo de la región de México (o país) a *Pachira aquatica* (Aubl) se le conoce como apompo, zapote de agua, palo de agua, cacao de monte. Es originario de regiones tropicales húmedas de América; se distribuye desde México pasando por, Centroamérica; en el sur de América, en

Venezuela, Perú, Bolivia, Surinam, Guayana y Ecuador, además del Noreste de Brasil. En México, se han reportado ejemplares en Veracruz, Puebla, Tabasco, Campeche, Quintana Roo, Colima, Guerrero, Jalisco, Nayarit, Chiapas, Oaxaca y Yucatán; se caracteriza por habitar en humedales por lo que es frecuente, encontrarlo el borde de lagunas y se ha reportado que es un indicador del límite del manglar (Infante-Mata *et al.*, 2014). Especialmente en Veracruz se le ha ubicado en las inmediaciones de las lagunas de la Mancha, Alvarado, El Llano, El Ostión, Pueblo Viejo, Tampamachoco, Mandinga, Tamiahua y Sontecomapan, y en los estuarios de los ríos Tuxpan (Niembro-Rocas *et al.*, 2010), así como en la región de la Mixtequilla, en la zona del Camarón reteniendo los suelos del río Blanco.

EXPERIMENTAL

Se llevó a cabo una revisión bibliográfica de los recursos disponibles en revistas y libros relacionados con árbol *Pachira aquatica* en México así como de algunos testimonios de los habitantes de la Comunidad de la Mixtequilla (zona del Camarón), Veracruz, especialmente la relacionada con el uso terapéutico de *Pachira aquatica*.

RESULTADOS

Uso y aprovechamiento de *Pachira aquatica*

En la tabla 1 se presenta un listado de los usos que le da a *Pachira aquatica* y la estructura (parte de la planta) que es utilizada, de este árbol en diferentes regiones de México. Como es evidente, es útil para tratar enfermedades como diabetes, mal de orín, desinflamar y limpiar riñones y el estómago, no es menos importante, su uso contra el envenenamiento por mordeduras de animales, urticaria, cicatrización y purificación de la sangre; en el sur de América consumen las hojas (Lorenzi, 1992).

Con respecto a las semillas, estas son cocidas como nueces y las tuestan para consumirlas (Lascurain, 2010) aunque también las muelen y utilizan para preparar una bebida como el chocolate, que tiene un buen sabor pero un olor repulsivo, es nutritiva y se utiliza como tónico. De acuerdo con Burkill (1985), las semillas de *P. aquatica* contienen 9% de agua, 10% de almidón, 16% de proteína y 40-50% de grasa. Sus componentes aminoácidos incluyen al triptófano, treonina, fenilalanina y tirosina, ciclopropanos que son tóxicos (Oliveira *et al.*, 2000). Por otro lado, se sabe que las semillas crudas son altamente tóxicas cuando se alimentan a ratas y se daña la vista al ser consumidas constantemente.

La madera obtenida del tronco es apreciada por carpinteros por su suavidad, ligereza y resistencia también es utilizada para producir pulpa de papel y con las fibras de la corteza se elaboran cuerdas (Chizmar, 2009); además de ser utilizado como postes para cercas. Las flores de *P. aquatica*, son muy llamativas y con frecuencia son vistas como plantas de interiores en macetas (Román *et al.* 2013; Ochoa *et al.*, 2011).

La forma en que se utiliza a *P. aquatica* en diferentes regiones de México es variable un ejemplo de esto es en la región de la Mixtequilla, Veracruz donde es empleado para tratar el mal de orín y diabetes para lo cual se emplea parte de la pulpa y la cáscara del fruto que se hierven en dos litros de agua, se deja reducir y se toma como agua de uso; para las picaduras de insectos se humedece un paño con esta solución y se coloca en el área afectada. En otros sitios también se utiliza para tratar el mal de orín, desinflamar limpiar los riñones y el estómago para ello, se toma agua de tiempo de reposo de tres pedazos de corteza machacado, esto durante 15 días (el agua es de color rojo y un poco amargo o tetelque).

Tabla 1. Estructura de *Pachira aquatica*, la forma en que se emplean y padecimientos que trata en diferentes regiones de México.

Estructura que se utiliza	Forma de uso	Usos	Región o Estado	Referencias
Hojas	Remojadas y el líquido se bebe	Contra envenenamiento y mordedura de animales venenosos	Chiapas, Guatemala	Standley y Williams, 1962
Hoja, Tronco	Comestibles, Infusión	Medicinal y Combustible	Veracruz	Caballero J. <i>et al.</i> , 1978
Corteza	Hervir	Diabetes	Veracruz	Avedaño-Reyes <i>et al.</i> , 1998
Hojas, Corteza, Tronco, Ramas, Savia de las hojas tiernas	Compresas, oral, baños	Urticaria, Saipullido	Puebla	Martínez-Alfaro <i>et al.</i> , 2001
Raíces, Corteza	Infusión	Diabetes	*	Aguilar-Contreras <i>et al.</i> , 2002
Raíz	Infusión	Diabetes	*	Hernández-Galicia <i>et al.</i> , 2002
Corteza, Fruto de corteza	Té	Diabetes, Mal de orin, mal del riñón	Veracruz	Leonti-Marco, 2002
Hojas	Infusión	Diabetes	Tabasco	Maldonado-Mares, F. 2005
Corteza, Fruto de corteza	Infusión	Diabetes	*	Andrade-Cetto <i>et al.</i> , 2005
Hojas	Plasma	Piquetes de insecto, Cicatrizante	Puebla, Tabasco, Quintana roo	Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional 2009
Tronco, Ramas, Fruto	Infusión, Tostadas	Medicinal, Postes, Madera, Cercas vivas y Conservación	Veracruz	Lascurain <i>et al.</i> , 2010
Cascara de corteza	Infusión	Diabetes	*	Navarrete-Gómez, S. 2010
Corteza y tallo, pulpa de bajo de la corteza	Infusión, Macerar	Disentería, Afección del riñón, Conjuntivitis, Dolor de vesícula	Tabasco	Magaña <i>et al.</i> , 2010
Hojas juvenes	Remojadas en agua	Picadura de serpiente	*	Ochoa <i>et al.</i> , 2011
*	Agua de uso	Diabetes, Mal de orin	Veracruz	Muñoz-Ibarra, T.C. 2012
Fruto y semillas	Tostadas, Infusión	Comestible, Diabetes	Veracruz	Zavala-Ocampo <i>et al.</i> , 2013
Corteza, Raíz	Infusión	Hemorragias, Disentería, Diabetes	Oaxaca	Castro-Juárez <i>et al.</i> , 2014
Hojas, Corteza	Comestibles, Infusión	Diabetes	Tabasco	Villarreal-Ibarra <i>et al.</i> , 2014, 2015
Corteza, Hojas	Infusión	Diabetes	Veracruz	Lazos-Ruiz <i>et al.</i> , 2016
Fruto	Infusión	Presión, Conjuntivitis, Diabetes, Dolor de vesícula	Tabasco	Alvares-Quiroz <i>et al.</i> , 2017
* No presenta información				

Algunos usos, además del medicinal, de *Pachira aquatica*

El árbol es empleado para hacer cercos vivos y, por sus flores llamativas, (Avedaño *et al.*, 2000; Román *et al.*, 2013 y Ochoa *et al.*, 2011), forma única del árbol que además es tolerante a la sequía, es popular como árbol ornamental de interiores por lo que pueden encontrarse en macetas. Bernardo *et al.* (2012), sugieren que la lipasa simple (cruda) de *P. aquatica* podría usarse para pretratamiento de aguas residuales como las de la industria petrolera, así como las que contienen grasas, esto debido a la capacidad para hidrolizar aceites vegetales como por ejemplo el de soja. Por otro lado, de acuerdo con Shibanti *et al.* (1999) la parte inferior del tronco se hincha para almacenar carbohidratos y agua.

CONCLUSIONES

P. aquatica, aunque es de origen tropical, se le puede encontrar en estados del interior de la República Mexicana como Puebla. Su uso medicinal comprende las diferentes partes de la planta y, para la diabetes es el uso principal en México. Es escasa la información relacionada con la forma en cómo se prepara y la cantidad de cada una de las estructuras de esta planta que se emplean para el tratamiento de las enfermedades reportadas en la literatura.

LITERATURA CITADA

1. A. C. Aguilar y S. M. Xolalpa, "La herbolaria mexicana en el tratamiento de la diabetes, Ciencia. Julio-septiembre, 2002, pp. 24-35.
2. M. N. Alexaidis y J. W. Sheldon, "Selected Guidelines for Ethnobotanical Research: a Field Manual", New York botanical Garden, Nueva York. EEUU.1996, pp. 306.
3. V. Q. Álvarez; L. B. Caso; M. F. Aliphath y A. T. Galmiche, "Plantas medicinales con propiedades frías y calientes en la cultura Zoque de Ayapa, Tabasco; México", Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 16 (4), 2017, pp. 428 – 454.
4. A. Andrade-Cetto and M. Heinrich. Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. Journal of Ethnopharmacology 99 (3), 2005, 325-348.
5. R. S. Avedaño. Bombacaceae. Flora de Veracruz Vol. 107, 1998, 1-40.
6. S. Avedaño y E. Acosta, "Plantas utilizadas como cercas vivas en el estado de Veracruz", Madera y Bosques Vol. 6 (1), 2000, 55-71.

7. K. S. Bernardo; A. E. Ursulino; M.V. Pontes; B. R. Alcântara. "Caracterização morfológica de frutos, sementes e fases da germinação de *Pachira aquatica* Aubl. (Bombacaceae)", *Semina: Ciências Agrárias*, Vol. 33 (3), 2012, 891-898.
8. Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana (2009) UNAM (consultado 13 enero 2018).
<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7909>.
9. M. Boada y V. M. Toledo. *El Planeta, Nuestro Cuerpo; La Ecología, el Ambientalismo y la Crisis de la Modernidad*. México: Fondo de Cultura Económica. 2006, pp. 240.
10. H. M. Burkill. *The useful plants of West Tropical Africa, Vol 1, Families A-D*. Royal Botanical Gardens, Kew, 1985, pp. 960.
11. C.J. Castro; N. R. Villa; S.A. G. Ramírez; C. G. Mosso, "Uso medicinal de plantas antidiabéticas en el legado etnobotánica oaxaqueño", *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. Vol. 19 (1), 2014, pp. 101-120.
12. J. Caballero, V.M. Toledo, A. Argueta, E. Aguirre, P. Rojas y J. Viccon. *Estudio Botánico y Ecológico de la Región del Río Uxpanapa, Veracruz*, No. 8. "Flora útil o el uso tradicional de las plantas". *Biótica* Vol. 3 (2), 1978, pp. 103-144.
13. C. Chízmar, "Plantas comestibles de Centroamérica. Santo Domingo de Heredia, Costa Rica", Instituto Nacional de Biodiversidad. Editorial INBio. pp. 123.
14. E. Hernández-Galicia, A. Aguilar-Contreras, L. Aguilar Santamaría, R. Román-Ramos, A.A. Chávez-Miranda, L. M. García-Vega. *Studies on hypoglycemic activity of Mexican medicinal plants*. *Proceedings of the Western Pharmacology Society*. Vol. 45 (1), 2002, pp. 118-124.
15. E. X. Hernández, "El concepto de la Etnobotánica". En: Barrera A. *La Etnobotánica tres puntos de vista y una perspectiva*. Cuadernos de divulgación. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. México, D.F. 1983.
16. D. M. Infante; P. C. Moreno y C. V. Madero, "¿*Pachira aquatica* un indicador del límite del manglar? *Revista Mexicana de Biodiversidad*. Vol. 85 (1):2014, pp. 143-160.
17. S. M. Lascurain; S. A. Avendaño y A. Niembro, "Guía de frutos comestibles en Veracruz", Conafor-Conacyt. México, 2010, pp.144.
18. A. Lazos-Ruíz; P. Moreno-Casasola; S. Sergio-Guevara; C. Gallardo; E. Galante. *El uso de los árboles de Jampa, tradiciones en un territorio deforestado*. *Madera y Bosques*. Vol. 22 (1), 2016, pp. 17-36.
19. Marco-Leonti. *Moko/ La Rosa Negra, Ethnobotany of popoluca Veracruz, México*. Thesis doctoral. Swiss Institute of Technology (ETH) Zurich. 2002.
20. J. Llorente-Bousquets., S. Ocegueda. *Estado del conocimiento de la biota*. En: *Capital Natural de México*. Vol I. *Conocimiento actual de la biodiversidad*, pp. 283-322, México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, 2008.
21. M. A. Magaña; C. L. M. Gama y M.R. Mariaca, "El uso de las plantas medicinales en las comunidades Mayachontales de Nacajuca, Tabasco, México", *Polibotánica* 29, 2010, pp. 213-262.
22. M. A. Magaña-Alquidío. *Vegetación y Flora del Municipio de Paraíso*. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. 2010, pp164.
23. G. Martín, "Etnobotánica: Manual de métodos", Norda-Comunidad. Montevideo, Uruguay. 2001, pp. 240.
24. F. Maldonado-Mares. *Flora medicinal del estado de Tabasco uso, manejo y conservación*. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Villahermosa, Tabasco. 2002, pp123.
25. M. A. A. Martínez; V. O. Evangelista; M. C. Mendoza; G. G. Morales; G. O. Toledo y A. L. Wong, "Catálogo de plantas útiles de la sierra Norte de Puebla, México", Instituto de Biología, UNAM 2001, pp. 303.
26. T. C. Muñoz-Ibarra. *Plantas medicinales salud y comunidad en San Pedro Soteapan, Veracruz. Una aproximación agroecológica*. Universidad Internacional de Andalucía. Universidad de Córdoba. 2018., pp. 116.
27. S. Navarrete-Gómez. *El apompo y la diabetes mellitus*. (internet) <http://salvadornavarrete.blogspot.mx/2010/02/el-apompo-y-la-diabetes-mellitus.html> consultado 28 de enero 2018.

28. A. R. Niembro; M. T. Vázquez y O. S. Sánchez, "Árboles de Veracruz 100 especies para la reforestación", Comisión Organizadora del Estado de Veracruz de Ignacio de la Llave para la Conmemoración del Bicentenario de la Independencia Nacional y del Centenario de la Revolución Mexicana/ Secretaría de Educación-Gobierno del Estado de Veracruz. 2010. pp. 255.
29. J. T. A. Oliveira, I. M. Vasconcelos, L. C. N. M. Bezerra, S. B. Silveira, A. C. O. Monteiro, R.A. Moreira, Composition and nutritional properties of sedes from *Pachira aquatica* Aubl. *Sterculia strata* St., Hill et Naud and *Terminalia catappa* Linn. Food Chemistry. 70, 2000, pp.185-191.
30. J. A. Ospina, *Pachira aquatica* Aubl. En Manual de semillas de árboles tropicales. Vozzo, J. A. Ed. Departamento de Agricultura de los Estados Unidos Servicios Forestales. 2010, pp 894.
31. S. G. Ochoa; I. H. Pérez; J. L. H. Frías; S. A. Jarquín y V.A. Méndez, "Estudio Prospecto de especies arbóreas promisorias para la fitorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos". Gobierno del Estado de Tabasco. 2011, pp. 145.
32. T. Pennington y J. Sarukhán, "Árboles tropicales de México". UNAM, Fondo de Cultura Económica. México, D.F. 2005, pp 523.
33. F. D. Román; S. T. Levy; R. R. Aguirre, "Árboles de la Selva Lacandona útiles para la restauración ecológica", CONAFOR, SEMARNAT. 2013.
34. J. Rzedowski. Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México. Acta Botánica Mexicana, 14, 1991a, 3-21.
35. J. Rzedowski. El endemismo en la flora fanerogámica mexicana: una apreciación analítica preliminar. Acta Botánica Mexicana, 15, 1991b, 47-64.
36. V. M. Toledo. La riqueza florística de México: un análisis para conservacionistas. En: Logros y perspectivas del conocimiento de los recursos vegetales de México en vísperas del siglo XXI, 1993, pp. 109-123, México: Instituto de Ecología, A. C.-Sociedad Botánica de México.
37. V. Toledo. La Memoria tradicional: la importancia agroecológica de los saberes tradicionales. *Leisa*, Revista de Agroecología, Vol. 20 (4), 2005, pp. 16-19.
38. V. M. Toledo, J. Caballero, A. Argueta, P. Rojas, E. Aguirre, J. Viccon, S. Martínez y Ma. E. Díaz. Estudio Botánico y Ecológico de la Región del Río Uxpanapa, Veracruz. El uso múltiple de la selva basado en el conocimiento tradicional. *Biótica* Vol. 3 (2), 1978, 85-101.
39. L. C. Servín y J. V. Gutiérrez, "Plantas medicinales del Distrito de Ocotlán, Oaxaca". Anales. Inst. Biol. UNAM. Vol. 60 (1), 1990, pp. 85-103.
40. M. Shibatani; Y. Hashidoko and S. Tahara, "A Major Fungitoxin from *Pachira aquatica* and its Accumulation in Outer Bark". Journal of Chemical Ecology Vol. 25 (2), 1999, pp. 347-353.
41. P. Standley and L. Williams. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany. Vol.24, Part VII, No. 2 Field Museum of Natural History. USA. 1962, pp 69-70.
42. E. C. I. Villarreal; E. García-López; P. Antonio-López; D. S. Palma-López; L. C. Lagunés-Espinoza; C.F. Ortiz-García; A. Oranday-Cárdenas. Plantas útiles en la medicina tradicional del Malpasito-Huimanguillo, Tabasco, México. *Polibotánica* 37, 2014, pp. 109-134.
43. E. C. I. Villarreal; L. C. E. Lagunés; P. A. López; E. L. García; D. J. L. Palma; C. F. G. Ortiz & M. A. C. Oranday, "Evaluación etnofarmacológica de plantas con propiedades usadas en la medicina tradicional del sureste de México". *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* Vol. 14 (2), 2015, pp. 92-112
44. L. M. O. Zavala; R. C. S. Vargas; A. H. Chimal; M. E. M. Ramírez; A. H. Gómez, "Plantas medicinales de la región de Catemaco, Veracruz". *Revista Digital del Departamento El Hombre y su Ambiente EBIOS*. Vol. 2 (4), 2013, pp. 17 -31.

ESTUDIO CINÉTICO DE LA DEGRADACIÓN DE TARTRAZINA MEDIANTE UNA REACCIÓN TIPO FENTON UTILIZANDO CU COMO CATALIZADOR

Jose Alejandro Nieves Rocha, Grethel Maite López Sánchez, Marcela Gómez Espinoza Macías, Areli Rodríguez Ontiveros, Miguel Angel Rea López, Maricela Gonzalez Leal y Adrian Sosa Dominguez

Universidad Autónoma de Querétaro. nievesr.alejandro@outlook.com

RESUMEN.

Anualmente se produce una gran cantidad de residuos tóxicos derivados de procesos manufactureros, los cuales en su mayoría son colorantes dirigidos a los mantos acuíferos. Uno de los colorantes más comunes es la tartrazina (amarillo 5), el cual ha presentado toxicidad reproductiva, aumento de alergias y cáncer en algunos casos. Ante esta problemática, es imperativa la creación de tratamientos económicamente viables y eficientes para la disposición de residuos a la red hidráulica. Existen métodos alternativos como las técnicas de oxidación avanzada, las cuales utilizan radicales libres para la degradación de residuos orgánicos. Una de ellas es la reacción de Fenton, la cual utiliza el Fe como catalizador en presencia de peróxido de hidrógeno, sin embargo, ésta tiene algunos inconvenientes como la generación de lodos tóxicos y un rango de pH de trabajo limitado. En el presente trabajo se demostró que el Cu es una alternativa viable como sustituto de este catalizador. Para llevar a cabo esto, primero se encontraron las condiciones ideales de reacción, evaluando el porcentaje de degradación del colorante a diferentes valores de pH y concentración del catalizador, por medio de espectroscopía de ultravioleta-visible. Posteriormente, se evaluó la cinética de reacción. Las mejores condiciones de reacción fueron pH=5 y concentración de catalizador (CuSO_4) de 5×10^{-3} M; con las cuales se alcanzó un 66,6% de degradación después de 15 minutos. De acuerdo al modelo cinético obtenido se determinó una reacción de segundo orden, con una ecuación $1[A]=128\text{ppm}+0.0046t$, un tiempo de vida media de 7.76 minutos, una rapidez de $3.61 \text{ mgL}^{-1}\text{min}^{-1}$ y una constante de $0.0046 \text{ mgL}^{-1}\text{min}^{-1}$. Se comprobó la capacidad catalizadora del Cu como sustituto del Fe en la degradación de tartrazina en una reacción tipo Fenton y se observó, con evidencia estadística, que el pH es la variable que más afecta el desarrollo de la reacción

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial la industria (textil, cosmética, alimenticia, de imprenta y farmacéutica) produce cantidades significativas de residuos de colorantes utilizados durante la manufactura; de estos residuos aproximadamente la mitad son colorantes azoicos, colorantes que pueden llevar a la formación de metabolitos intermediarios, desencadenando problemas de salud como mutaciones y cáncer. Dentro de estos colorantes, la tartrazina, también conocida como amarillo 5, es un colorante ampliamente utilizado en la industria alimentaria relacionada como reacciones de intolerancia y toxicidad reproductiva, siendo imperativo un proceso de degradación adecuado y económicamente viable para su disposición a la red hidráulica.

Los colorantes azoicos son tratados por métodos convencionales, teniendo el inconveniente de no ser tan eficientes, además de formar lodos peligrosos difíciles de eliminar. Ante ello se utilizan las tecnologías de oxidación avanzada (TOA), que utilizan radicales hidroxilo para la degradación de contaminantes orgánicos. Uno de estos métodos es la reacción de Fenton, brindando ventajas como un bajo costo por proceso, mayor eficiencia y disminución de residuos tóxicos.

De forma convencional la reacción de Fenton utiliza hierro como catalizador homogéneo (llamado reactivo de Fenton) permitiendo una degradación relativamente rápida. El reactivo de Fenton provoca a la reacción trabajar en un rango limitado de pH y además presentan el inconveniente de la formación de lodos. Ante ello, se han comenzado a desarrollar investigaciones para el uso de catalizadores alternativos, que permitan un menor impacto ambiental, incrementando el rendimiento de degradación y ampliando el rango de trabajo en la escala de pH. Pocos estudios han sido reportados en la literatura respecto al Cobre como sustituto del hierro tomando la función de catalizador, específicamente en la degradación de la tartrazina. Buscando procesos más eficientes y con menor impacto ecológico fue necesario estudiar la reacción de Fenton catalizada con Cobre y las variables que más intervienen en el proceso de degradación como lo son pH y la concentración inicial de catalizador; hasta obtener las condiciones ideales para mejorar la rapidez de la reacción y

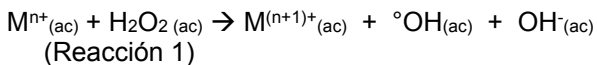
de esta manera fue posible proponer al Cobre como un catalizador competitivo para la reacción de Fenton

ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

Actualmente los azo colorantes han sido ampliamente utilizados en la industria textil, la cual los desecha provocando un alto impacto de contaminación por los efectos tóxicos, carcinogénicos y mutagénicos que causan a la salud. Una característica que comparten estos colorantes es la baja eficiencia de degradación por parte de los tratamientos biológicos utilizados normalmente. Existen otros métodos para el tratamiento de aguas; sin embargo, éstos presentan algunos inconvenientes como altos costos o eficiencias bajas; por lo que surgen alternativas como lo son los procesos de oxidación avanzada (AOPs, por sus siglas en inglés). (Shen, Zhou et al., 2017).

Dentro de los procesos de oxidación avanzada se encuentra el proceso Fenton, tradicionalmente utilizado con una mezcla de iones de hierro (Fe^{2+}) con peróxido de hidrógeno (H_2O_2) para la degradación de los colorantes azo. Teniendo las ventajas de ser muy eficientes, relativamente simples y económicos. Sin embargo, presenta algunas desventajas como la generación de grandes cantidades de lodos de hierro tóxicos que representan un coste adicional por su posterior remoción además de trabajar en un limitado rango de pH de 2 a 3 (Pan, Zhou et al., 2016), debido a que a pH mayores el Fe precipita como hidróxidos. El cobre como catalizador de la reacción de Fenton no presenta hidróxidos insolubles lo que permite trabajar en un rango de pH más amplio.

La reacción Fenton en su forma general es:



Donde M es el Metal de transición, $^{\circ}\text{OH}$ es el radical hidroxilo. (Gamarra, C. D., 2012)

Regularmente en el proceso Fenton se utiliza hierro como catalizador para completar el proceso catalítico, de tal manera que las formas oxidadas de los cationes metálicos puedan ser reducidos, sin embargo, también se ha reportado el uso del catión cobre para un mecanismo de reducción similar. Donde el cobre es rápidamente oxidado por acción del peróxido de hidrógeno en altas concentraciones. (Nichela et al, 2013)

El cobre es un elemento traza esencial que está ampliamente distribuido en aguas dulces y mares, la mayor parte del cobre presente en el ambiente está complejoado con sustancias orgánicas de origen biológico. Los compuestos de cobre disueltos son importantes en reacciones de transformación de materia orgánica en medio acuoso, ya que reaccionan mucho más rápidamente con radicales hidropéroxido y superóxido, y otras especies en solución (Nichela, 2012).

Tanto el cobre como el hierro son elementos abundantes que coexisten en cuerpos acuíferos. Ambos poseen propiedades oxidoreductoras similares, correlacionado a las condiciones del ambiente. A causa de la complejidad y labilidad de sus ciclos, se asume una influencia de la presencia de Cu en los equilibrios que involucran Fe y viceversa. (Nichela, 2012).

HIPÓTESIS

Es posible determinar experimentalmente la cinética de la degradación de la tartrazina por reacción tipo Fenton catalizada por cobre

OBJETIVOS

Objetivo General: Determinar las condiciones que favorecen un aumento de la velocidad por medio del estudio de la cinética de la degradación de tartrazina utilizando una reacción tipo Fenton con Cu como catalizador

Objetivos específicos

- Comprobar la capacidad catalizadora del Cobre como sustituto de Hierro en la degradación de tartrazina en una reacción tipo Fenton.
- Estudiar la influencia de las condiciones de reacción como son pH y concentración inicial de catalizador.
- Obtener el modelo cinético de degradación de la tartrazina.

METODOLOGÍA

El presente trabajo se llevó a cabo en dos etapas. La primera consistió en evaluar las variables propuestas: pH y concentración inicial de catalizador con el propósito de determinar las condiciones óptimas que favorecieran la degradación de la tartrazina. En la segunda etapa se realizó el estudio cinético de la degradación de tartrazina catalizada por cobre utilizando las condiciones previamente estudiadas.

Se llevaron a cabo una serie de experimentos cualitativos con la finalidad de definir las concentraciones de colorante y Peróxido de Hidrógeno a utilizar. Además se fijaron las proporciones de reactivos utilizados a lo largo de la investigación. De esta manera, fueron utilizados 2 ml de tartrazina con concentración de 28 mg/l, 5 ml H₂O₂ al 3% y 1 ml de catalizador con concentración y condiciones de pH como se indica en la tabla 1. Además se realizó un barrido en la región visible para determinar la longitud de máxima absorción del colorante.

La primera variable de estudio fue el pH debido a la escasa información que existe en la literatura sobre las condiciones de degradación con cobre. Se probaron valores de pH de 2, 3, 4 y 5 los cuales fueron ajustados con H₂SO₄ 0.01M y medidos con un pH-metro. Para esta parte de la experimentación se mantuvo constante la concentración inicial de sulfato de cobre de 5x10⁻³M. Para cada experimento se elaboró la curva de calibración correspondiente y se realizaron ensayos por duplicado durante 15 minutos con frecuencia de medición de un minuto programado en modo cinética en el espectrofotómetro ultravioleta visible Marca Hewlett Packard Modelo 8453. Una vez realizadas todas las corridas, se compararon los porcentajes de degradación alcanzados para determinar la mejor condición de pH. Una vez seleccionado el pH óptimo para la degradación, esta condición se mantuvo constante para el estudio de la concentración inicial de catalizador. Para estudiar esta variable, se probaron concentraciones de 2x10⁻³, 3x10⁻³, 4x10⁻³ y 5x10⁻³M. Para cada experimento se elaboró la curva de calibración correspondiente y se realizaron ensayos por duplicado durante 20 minutos con frecuencia de medición de un minuto programado en modo cinética en el espectrofotómetro ultravioleta visible Marca Hewlett Packard Modelo 8453. Una vez realizadas todas las corridas, se compararon los porcentajes de degradación alcanzados para determinar la mejor condición de concentración inicial de catalizador.

Al determinar las condiciones óptimas para la degradación de tartrazina catalizada por cobre, se seleccionó la corrida realizada bajo estos parámetros y se realizó el estudio cinético de la reacción. Finalmente, se realizó el análisis estadístico correspondiente para determinar la diferencia significativa entre los valores de degradación obtenidos entre las corridas.

Por otro lado, la influencia de la temperatura es un parámetro importante en la velocidad de reacción, el rendimiento y la distribución (Sun, Sun et al. 2007) sin embargo, en este estudio no fue considerada esta variable debido a que no se cuenta con la instrumentación adecuada para realizar el control de la reacción a una temperatura diferente a la temperatura ambiente.

Tabla 1 Diseño experimental para la degradación de tartrazina.

Experimento	Concentración de colorante (mg/l)	pH	Concentración de CuSO ₄ (M)	ml agregados H ₂ O ₂ al 30%
E1	28	2	5x10 ⁻³ M	5
E2	28	3	5x10 ⁻³ M	5
E3	28	4	5x10 ⁻³ M	5
E4	28	5	5x10 ⁻³ M	5
E5	28	5	2x10 ⁻³ M	5
E6	28	5	3x10 ⁻³ M	5
E7	28	5	4x10 ⁻³ M	5

RESULTADOS

Para cada experimento se realizó una curva de calibración. El valor de R^2 , que indica el ajuste al modelo de la recta, debía ser mayor a 0.990. Al cumplir con este valor, fueron calculados los parámetros de calidad de cada una de ellas. En la tabla 2 se presenta la ecuación y el ajuste de la recta obtenido para cada experimento.

Los porcentajes de degradación alcanzados después de la experimentación se muestran en la tabla 3, así mismo, se muestran los valores de absorbancia en tiempo cero y tiempo final, además se presentan los valores de concentración de tartrazina en los tiempos anteriormente descritos

Tabla 2 Resultados curvas de calibración en las diferentes condiciones de pH y concentración de catalizador

Experimento	Ecuación de la recta	Ajuste de la recta (R^2)
1	$y = 0.0107x + 0.0193$	0.9917
E2	$y = 0.0098x - 4 \times 10^{-5}$	0.9992
E3	$y = 0.0104x + 0.0158$	0.9926
E4	$y = 0.0075x + 0.0074$	0.9923
E5	$y = 0.0107x + 0.0024$	0.9908
E6	$y = 0.0103x + 0.0081$	0.991
E7	$y = 0.0086x + 0.0103$	0.9905

En la figura 1 se muestra la gráfica de la comparación de los porcentajes de degradación de la tartrazina en función del tiempo a diferentes condiciones de pH. En el gráfico se puede observar que el pH con mayor degradación alcanzada es pH=5. Cabe destacar que esta condición de pH es la condición misma de la reacción, por lo que no fue necesario añadir ningún reactivo.

Se observa la fuerte influencia de la variable pH obteniendo mayor porcentaje de degradación al aumentar el pH.

En la figura 2 se observa la comparación de los porcentajes de degradación de tartrazina en función del tiempo a diferentes concentraciones iniciales de catalizador. En la figura puede observarse que el mayor porcentaje de degradación es alcanzado por la solución de Sulfato de Cobre más concentrada ($5 \times 10^{-3}M$) sin embargo, puede observarse una tendencia similar con porcentajes de degradación parecidos entre sí.

Tabla 3 Concentraciones de tartrazina y porcentajes de degradación alcanzados para cada experimento

Expto.	Absorbancia medida t_0 (UA)	Absorbancia medida t_f (UA)	Concentración tartrazina t_0 (mg/l)	Concentración tartrazina t_f (mg/l)	% de degradación
E1	0.2504	0.2145	21.645	18.243	15.72
E2	0.2775	0.2116	28.320	21.593	23.74
E3	0.2647	0.196	23.923	17.327	27.57
E4	0.2374	0.0792	30.666	9.566	68.8
E5	0.2657	0.1154	21.607	10.560	56.08
E6	0.2488	0.1005	23.369	8.971	61.61
E7	0.2541	0.1082	28.349	11.384	59.84

Al observar el comportamiento de la degradación en ambas gráficas se determina que la mejor condición de concentración de catalizador fue 5×10^{-3} M, por lo tanto, se determina que las mejores condiciones evaluadas para la degradación de tartrazina por reacción tipo Fenton catalizada por Cobre son pH=5 y Concentración de Sulfato de Cobre 5×10^{-3} M.

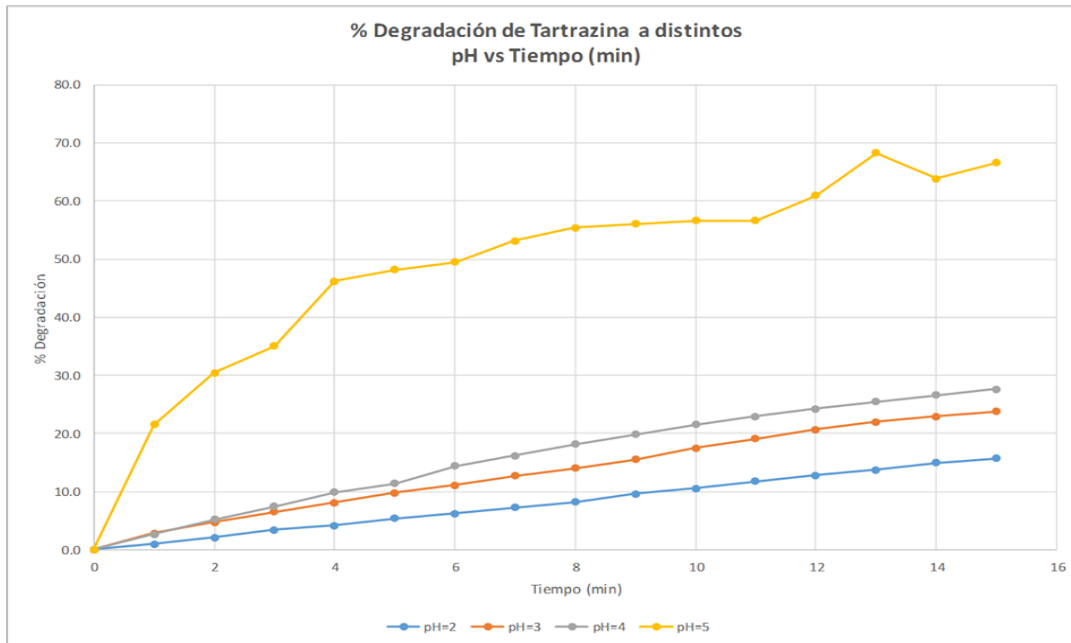


Figura 1 Comparación de porcentajes de degradación de tartrazina en función del tiempo a diferentes pH

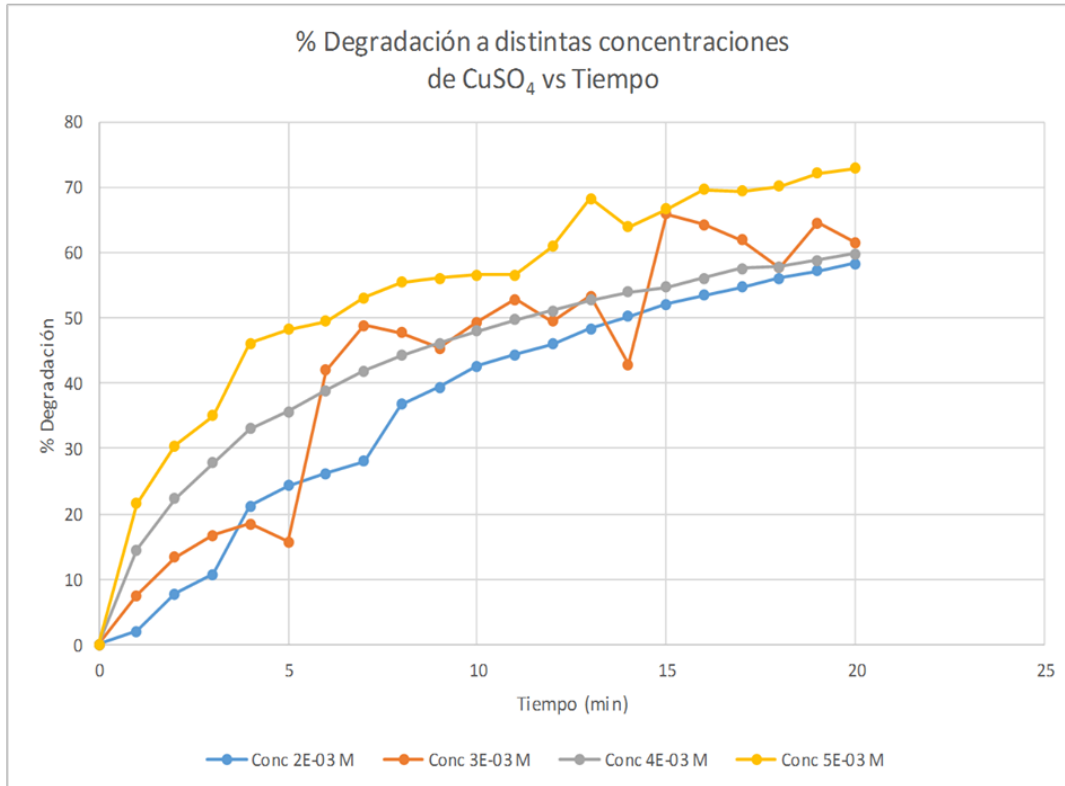


Figura 2 Comparación de porcentajes de degradación de tartrazina en función del tiempo a diferentes concentraciones de sulfato de cobre

Una vez obtenidas estas condiciones se realizó el estudio cinético de la reacción de degradación de la tartrazina, estableciendo el orden de reacción, y los parámetros correspondientes.

Se determinó el orden de reacción por el método gráfico con los datos obtenidos para cada orden de reacción. Se seleccionó el modelo que tuviera un mejor ajuste lineal. Los cálculos se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4 Datos para la gráfica del modelo cinético de orden cero.

Tiempo (min)	[tartrazina] (mg/l)	Tiempo (min)	[tartrazina] (ppm)
0	30.6667	11	12.7267
1	23.8267	12	11.3600
2	21.0200	13	9.0400
3	19.5600	14	10.4400
4	16.0400	15	9.5667
5	15.4000	16	8.6267
6	14.9933	17	8.7067
7	13.8400	18	8.4333
8	13.1133	19	7.8400
9	12.9133	20	7.5933
10	12.7267		

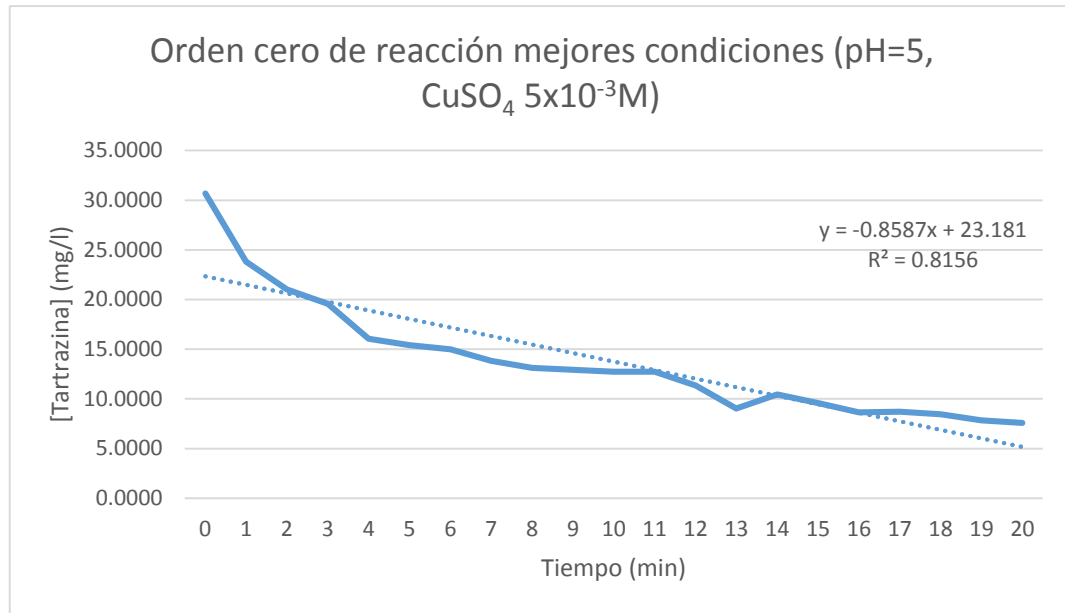


Figura 3 Gráfica obtenida para degradación tartrazina orden cero de reacción

Tabla 5 Datos para la gráfica del modelo cinético de primer orden

Tiempo (min)	ln(tartrazina)	Tiempo (min)	ln(tartrazina)
0	3.4232	11	2.5437
1	3.1708	12	2.4301
2	3.0455	13	2.2017
3	2.9735	14	2.3456
4	2.7751	15	2.2583
5	2.7344	16	2.1549
6	2.7076	17	2.1641
7	2.6276	18	2.1322
8	2.5736	19	2.0592
9	2.5583	20	2.0273
10	2.5437		

Se observó un mejor ajuste en segundo orden de reacción con un $R^2=0.9707$

A partir de este parámetro, se determinan los datos correspondientes:

Cálculo de la constante cinética

Al pertenecer a reacción de segundo orden, la constante cinética se obtiene de la pendiente de la gráfica.

$$k = 0.0046 \frac{1}{ppm \cdot min}$$

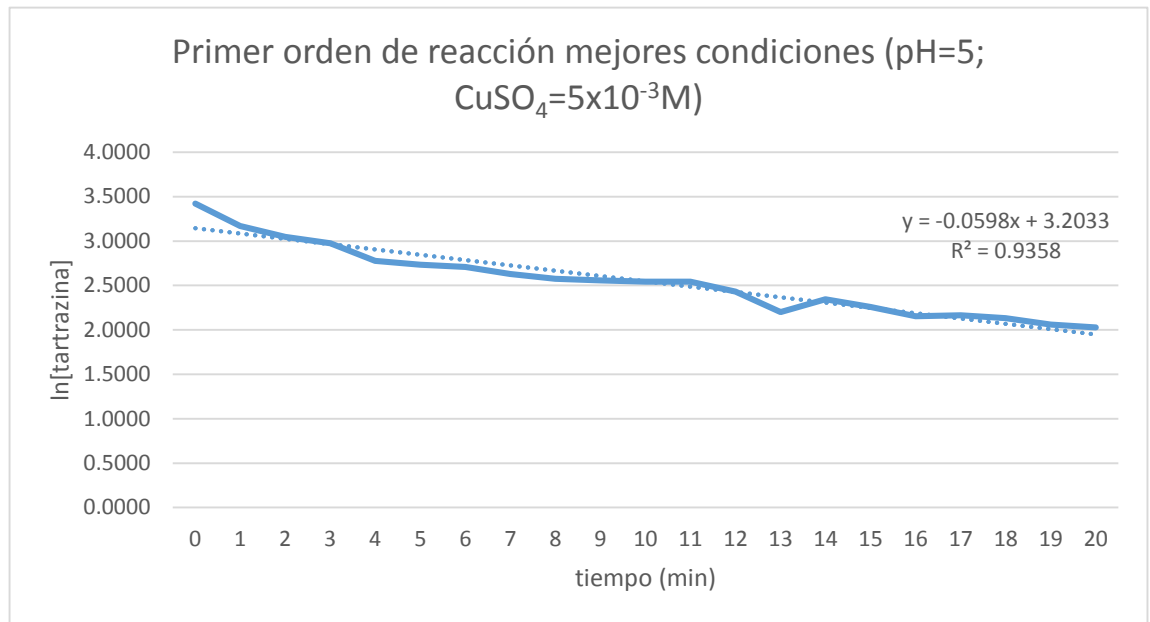


Figura 4 Gráfica obtenida para degradación tartrazina primer orden de reacción

Cálculo de la ecuación de la reacción

Para determinar la ecuación de la reacción, se parte de la ecuación general de la reacción de segundo orden

$$\frac{1}{[A]} = \frac{1}{[A]_0} + kt$$

Sustituyendo los datos correspondientes obtenemos que

$$\frac{1}{[A]} = \frac{1}{28 \text{ ppm}} + 0.0046 \frac{1}{\text{ppm} \cdot \text{min}} t$$

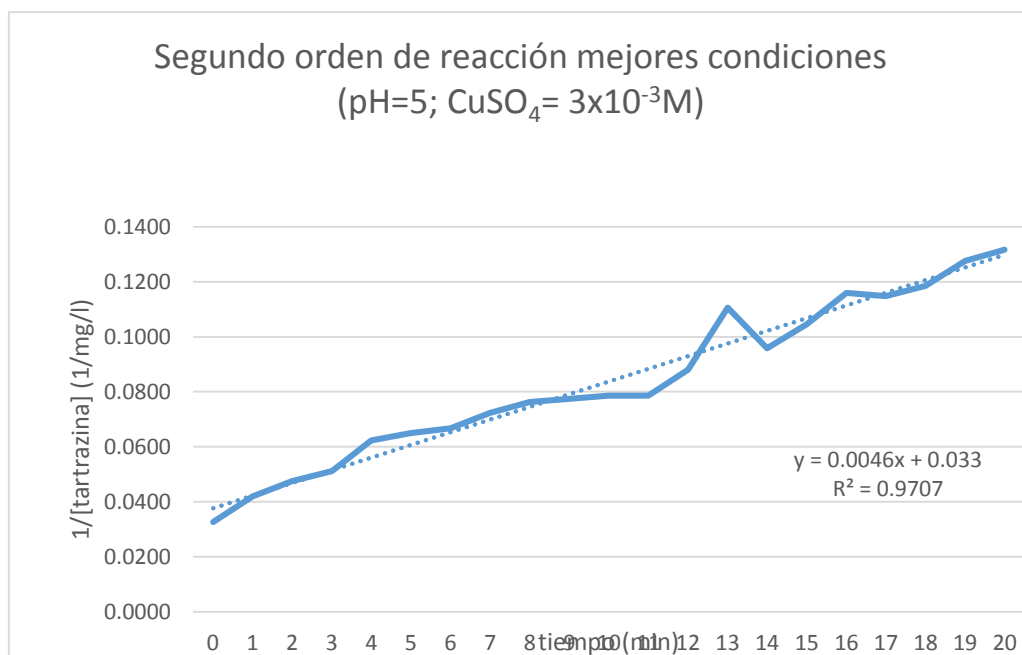


Figura 5 Gráfica obtenida para degradación tartrazina segundo orden de reacción

Tiempo (min)	ln(tartrazina)	Tiempo (min)	ln(tartrazina)
0	0.0326	11	0.0786
1	0.0420	12	0.0880
2	0.0476	13	0.1106
3	0.0511	14	0.0958
4	0.0623	15	0.1045
5	0.0649	16	0.1159
6	0.0667	17	0.1149
7	0.0723	18	0.1186
8	0.0763	19	0.1276
9	0.0774	20	0.1317
10	0.0786		

Cálculo para la velocidad de reacción

Para calcular la velocidad de reacción es necesario utilizar la fórmula correspondiente de segundo orden de reacción:

$$v = k[A]^2$$

Sustituyendo los datos correspondientes obtenemos que

$$v = 0.0046 \frac{1}{\text{ppm} \cdot \text{min}} [28\text{ppm}]^2$$

Por lo tanto

$$v = 3.606 \frac{\text{ppm}}{\text{min}}$$

Cálculo para la vida media del colorante

Para determinar la vida media de la tartrazina, fue necesario utilizar la fórmula específica para reacciones de segundo orden:

$$t_{1/2} = \frac{1}{kA_0}$$

Sustituyendo los datos correspondientes obtenemos que

$$t_{1/2} = \frac{1}{0.0046 \frac{1}{\text{ppm} \cdot \text{min}} (28\text{ppm})}$$

Por lo tanto

$$t_{1/2} = 7.76 \text{ min.}$$

En la Tabla 6 se sintetizan los datos correspondientes al análisis cinético para la degradación de tartrazina por reacción tipo Fenton catalizada por Cobre

ANOVA de un solo factor:

H₀: El factor pH no genera una diferencia significativa en los porcentajes de degradación

H₁: El factor pH sí genera una diferencia significativa en los porcentajes de degradación

Se obtuvo un Valor P=0.006, que es menor al nivel de significancia contemplado. Por lo tanto se rechaza la hipótesis nula, es decir que existe evidencia estadística para concluir que los porcentajes de degradación sí difieren estadísticamente entre ellos; además de que las variables pH y concentración inicial de catalizador tiene efectos significativos en esta reacción.

ANOVA de un solo factor para comparar el efecto de pH

pH inicial	N	Media	Agrupación
E1 pH 2	2	15.72	A
E2 pH 3	2	23.74	A B
E3 pH 4	2	29.65	B
E4 pH 5	2	69.19	C

ANOVA de un solo factor para comparar el efecto de concentración inicial del catalizador

Conc catalizador inicial	N	Media	Agrupación
E5 2x10 ⁻³	2	53.28	A
E6 3x10 ⁻³	2	65.93	A B
E7 4x10 ⁻³	2	54.18	A B
E8 5x10 ⁻³	2	69.19	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Tabla 6 Datos obtenidos del estudio cinético de las mejores condiciones para la degradación de tartrazina por reacción tipo Fenton catalizada por cobre

Datos obtenidos estudio cinético
Segundo orden
$k = 0.0046 \frac{1}{\text{ppm} \cdot \text{min}}$
$\frac{1}{[A]} = \frac{1}{28 \text{ ppm}} + 0.0046 \frac{1}{\text{ppm} \cdot \text{min}} t$
$t_{1/2} = 7.76 \text{ min}$
$v = 3.61 \text{ ppm/min}$

Finalmente, con evidencia estadística se puede concluir que el pH sí es una variable que afecte el desarrollo de la reacción de degradación, no mostrando similitudes estadísticas entre las mejores condiciones encontradas de manera experimental y el resto de los ensayos para el pH. Así como también se observó que la concentración inicial de catalizador, si bien tiene un efecto positivo al aumento de concentración, no es un parámetro que tenga un efecto significativo en el desempeño de la reacción de estudio; siendo así el pH la variable más importante a considerar.

En la investigación desarrollada se observó que el parámetro con mayor influencia en la rapidez de la reacción es el pH, mediante la experimentación se distinguió un aumento en la rapidez de la reacción conforme el pH se acercaba a la neutralidad, sin embargo, no fue posible analizar valores de pH más alcalinos ya que al agregar NaOH para alcalinizar el medio se observó la precipitación de Cobre como $\text{Cu}(\text{OH})_2$ lo que provocó interferencias y no fue posible llevar a cabo el estudio de pH básicos. Sin embargo, debido a la tendencia se esperaba lograr mayores porcentajes de degradación en menos tiempo en condiciones de pH básicos.

En la metodología reportada en la literatura consultada se menciona que la experimentación se realiza bajo agitación constante, sin embargo, al realizar la experimentación bajo esa condición la rapidez en la degradación del colorante disminuyó notablemente, esto puede atribuirse a la liberación del peróxido de hidrógeno desencadenando en la baja o nula producción de radicales hidroxilo capaces de degradar el enlace azoico de la tartrazina. Bajo esta suposición, la experimentación realizada durante la investigación se realizó sin agitación. Por otro lado, se realizó el análisis cinético de la reacción bajo las mejores condiciones encontradas experimentalmente. Dentro de los valores obtenidos se encuentra el tiempo de vida media, este valor nos indica el tiempo que tarda la tartrazina en disminuir su concentración a la mitad de la concentración inicial. Por lo tanto, se puede observar que para las mejores condiciones se obtuvo el menor tiempo de vida media, que indica que tardará el menor tiempo en degradarse.

CONCLUSIONES

Se comprobó la capacidad catalizadora del cobre como sustituto del hierro en la degradación de tartrazina en una reacción tipo Fenton. Se encontraron las mejores condiciones de trabajo, pH=5 y concentración de CuSO_4 a 5×10^{-3} M; con las cuales se alcanzó un 66,6% de degradación en 15 minutos.

Se obtuvo el modelo cinético de degradación de tartrazina, obteniendo una reacción de segundo orden, una ecuación de $\frac{1}{[A]} = \frac{1}{28 \text{ mg/l}} + 0.0046t$, un tiempo de vida media de 7.76 min, una rapidez de 3.61 mg/l/min y una constante de $0.0046 \text{ (mg/l)}^{-1}(\text{min})^{-1}$

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Modirshahla, N., Behnajady, M., & Kooshaiian, Fragoso, C. T., Battisti, R., Miranda, C., & Jesus, P. C. (2009). Kinetic of the degradation of C.I. Food Yellow 3 and C.I. Food Yellow 4

- azo dyes by the oxidation with hydrogen peroxide. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 301(1-2), 93-97. doi:10.1016/j.molcata.2008.11.014
2. Nichela, D. A., Berkovic, A. M., Costante, M. R., Juliarena, M. P., & Einschlag, F. S. (2013). Nitrobenzene degradation in Fenton-like systems using Cu(II) as catalyst. Comparison between Cu(II)- and Fe(III)-based systems. *Chemical Engineering Journal*, 228, 1148-1157. doi:10.1016/j.cej.2013.05.002
 3. Nichela, D. A., Berkovic, A. M., Costante, M. R., Juliarena, M. P., & Einschlag, F. S. (2012). Nitrobenzene degradation in Fenton-IS. (2007). Investigation of the effect of different electrode connections on the removal efficiency of Tartrazine from aqueous solutions by electrocoagulation. *Dyes and Pigments*, 74(2), 249-257. doi:10.1016/j.dyepig.2006.02.006
 4. Pan, Y., Zhou, M., Li, X., Xu, L., Tang, Z., & Liu, M. (2016). Novel Fenton-like process (pre-magnetized Fe⁰/H₂O₂) for efficient degradation of organic pollutants. *Separation and Purification Technology*, 169, 83-92. doi:10.1016/j.seppur.2016.06.011
 5. Shen, Y., Zhou, Y., Zhang, Z., & Xiao, K. (2017). Cobalt-copper oxalate nanofibers mediated Fenton degradation of Congo red in aqueous solutions. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 52, 153-161. doi:10.1016/j.jiec.2017.03.038
 6. Sun, J., Sun, S., Wang, G., & Qiao, L. (2007). Degradation of azo dye Amido black 10B in aqueous solution by Fenton oxidation process. *Dyes and Pigments*, 74(3), 647-652. doi:10.1016/j.dyepig.2006.04.006
 7. Thiam, A., Zhou, M., Brillas, E., & Sirés, I. (2014). Two-step mineralization of Tartrazine solutions: Study of parameters and by-products during the coupling of electrocoagulation with electrochemical advanced oxidation processes. *Applied Catalysis B: Environmental*, 150-151, 116- 125. doi:10.1016/j.apcatb.2013.12.011

OBTENCIÓN DE ADN A PARTIR ADULTOS Y LARVAS DE *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Andrea Ramírez de la Mora, Viviana Matilde Mesa Cornejo, Jorge Enrique Mejía Sánchez

Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara

RESUMEN

La obtención de ácido desoxirribonucleico (ADN) de buena calidad es la principal condición para realizar estudios de biología molecular y genética. Entre muchas aplicaciones el ADN extraído es utilizado en la industria farmacéutica y/o para diagnóstico clínico. Se han desarrollado gran variedad de métodos para lograr este objetivo, sin embargo, cada uno de ellos tienen pros y contras, actualmente se buscan métodos que minimicen la degradación del ADN, que tengan mayor eficiencia, sean más rápidos y menos costosos. La importancia de la extracción de ADN a partir de *Drosophila melanogaster* (*Dm*) radica en su gran variedad de aplicaciones, nuevas generaciones de investigadores han seleccionado a la mosca de la fruta como el organismo modelo para el estudio de problemas fundamentales en Biología y áreas de la salud, debido al alto porcentaje de homología entre los genes de *Dm* y el ser humano. El presente trabajo tuvo como objetivo realizar un análisis comparativo entre la cantidad y calidad del material genético obtenido a partir de adultos y larvas de tercer estadio de *Drosophila melanogaster*.

La extracción se realizó mediante el método salting-out con modificaciones propias, los análisis de calidad y cantidad se realizaron mediante técnicas de espectrofotometría, electroforesis y análisis de imágenes. Los resultados evidencian que la extracción de adn a partir de larvas, proporciona material genético de mayor calidad y cantidad que utilizando adultos.

INTRODUCCIÓN

Los problemas éticos que implica tener modelos reales para realizar investigación en salud ha llevado a los diferentes grupos de estudio a buscar alternativas, por tal razón desde que Morgan propuso a la *Drosophila melanogaster* comúnmente llamada mosca de la fruta o del vinagre, como modelo biológico, los estudios en genética se han diversificado debido a las facilidades que brinda en cuanto a mantenimiento y aplicabilidad. Aunado a lo anterior, las múltiples estrategias para obtener material genético, de cualquier organismo que lo contenga, se perfeccionan cada vez más. Existen diferentes técnicas que nos permiten extraer el ADN a partir de moscas adultas o de larvas en tercer estadio para dichos estudios se requiere procesar un gran número de muestras por lo que es indispensable contar con un método de extracción rápido, eficiente y económico. Las larvas en tercer estadio son de gran importancia debido a que en las células de sus glándulas salivales se encuentran los cromosomas politénicos, pero a la vez su manipulación resulta complicada y laboriosa, como consecuencia no es la opción más eficiente para obtener ADN, por su parte, la extracción a partir de moscas adultas también tiene sus pros y contras debido a que estas tienen mayor cantidad de tejido y extremidades resultando difícil eliminar las impurezas durante la extracción.

TEORÍA

Drosophila melanogaster

Drosophila melanogaster es un díptero de tamaño pequeño que también es conocida como la “mosca de la fruta o del vinagre”. Se ha utilizado como organismo experimental en estudios genéticos desde principios del siglo pasado. Ha sido utilizado, debido a que presenta grandes ventajas entre ellas la facilidad de cultivo, el corto tiempo generacional, progenie prolífica, pequeño tamaño, número reducido de cromosomas ($2n=8$), cromosomas politénicos en glándulas salivales y numerosas mutaciones identificables.

Su ciclo biológico incluye varios estados (Figura 1): huevo, larva en primer estadio (periodo comprendido entre el nacimiento y la primera muda), larva en segundo estadio (comprende el periodo entre la muda primera y la segunda), larva en tercer estadio (va desde la segunda muda hasta la inmovilización de la larva para dar lugar a la pupa), pupa, imago y adulto. La duración del ciclo de vida es de 9 a 11 días, pero este puede variar con la temperatura. Las larvas constituyen el material idóneo para el estudio de los cromosomas politénicos presentes en las células de las glándulas salivales, de ahí la necesidad de conocer sus características y desarrollo (Calpena, 2008).

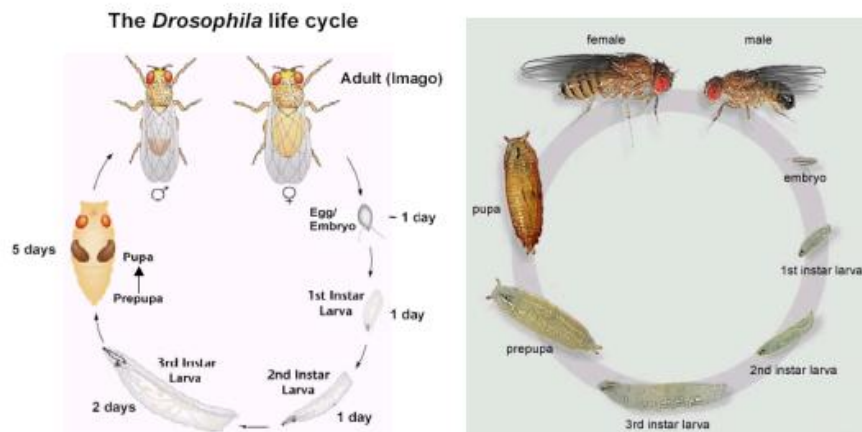


Figura 1. Ciclo biológico de *Drosophila melanogaster* (Calpena, 2018)

Extracción de ADN

El ADN es el material genético de las células eucariotas cuya manipulación y análisis es necesario para la investigación de las bases moléculas en distintas enfermedades (Mayorga-Barragan, 2015). Su aplicación en técnicas moleculares inicia con la extracción de estos ácidos nucleicos y la obtención exitosa de datos confiables y reproducibles depende, en gran medida de la extracción de ADN íntegro y puro.

La extracción consiste en el aislamiento y purificación de moléculas de ADN y se basa en las características fisicoquímicas de la molécula. El ADN está formado por dos cadenas de nucleótidos unidas entre sí formando una doble hélice y estos a su vez están integrados por un azúcar, un grupo fosfato y una base nitrogenada.

Los grupos fosfato están cargados negativamente y son polares, lo que le confiere al ADN una carga neta negativa y lo hace altamente polar, características que son aprovechadas para su extracción. Los grupos fosfato tienen una fuerte tendencia a repelerse, debido a su carga negativa, lo que permite disolver al ADN en soluciones acuosas y formar una capa hidratante alrededor de la molécula. Pero, en presencia de etanol, se rompe la capa hidratante y quedan expuestos los grupos fosfato, esto permite que el ADN se precipite.

A lo largo del tiempo se han diseñado distintos protocolos con la finalidad de obtener una calidad y cantidad de ADN adecuados, estos métodos de extracción pueden llevarse a cabo durante unas horas o incluso pueden tardar días debido a los numerosos pasos que deben realizarse. En general todos estos métodos consisten en cinco principales etapas las cuales son; homogenización, lisis celular, separación de proteínas y lípidos, precipitación y redisolución del ADN.

La selección del método de extracción es un paso fundamental en las técnicas moleculares y depende del organismo bajo estudio, el tejido disponible y su estado de conservación, la técnica que se aplicará posteriormente, los recursos económicos y tiempo para obtener resultados. El objetivo de todos los métodos existentes es encontrar un equilibrio entre pureza y rendimiento.

La extracción de ADN íntegro y sin contaminantes es esencial para tener éxito en la obtención de datos genéticos, es el primer paso en la lista de técnicas moleculares que nos llevarán a comprender mejor y conservar la diversidad biológica a partir del conocimiento de genes y genomas favoreciendo la investigación de diferentes campos de Biología y áreas de la salud (Alejos, 2014).

La necesidad de trabajar con modelos de organismos en la investigación en la salud ha revelado las utilidades de la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* considerando sus ventajas para realizar genética clásica y modernas técnicas de edición del genoma de forma rápida y fácil (Santillana, 2016). Muchos de los genes humanos son homólogos a los de la mosca aproximadamente el 75 % de los loci involucrados en enfermedades humanas tienen un homólogo en *Drosophila* (Llorens, 2009), por lo que se ha convertido en el principal modelo de estudio de enfermedades que afectan

al humano, debido a esto la extracción de ADN de buena calidad a partir de la mosca de la fruta se ha vuelto fundamental para llevar a cabo estos estudios.

Dentro de las múltiples técnicas de extracción de ADN de *Drosophila melanogaster*, el método fenol cloroformo es uno de los más utilizados, pero resulta laborioso y requiere usar solventes orgánicos, lo que representa un riesgo para la salud humana y el ambiente, principalmente por las dificultades para la eliminación de estos reactivos. Además, se ha reportado que la presencia de los residuos de fenol puede contaminar el producto de extracción e inhibir la amplificación. (Niu, 2008). Otros métodos utilizados son salting out, Chelex, tampón Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide-CTAB, Sarcosil y proteinasa K (Rosero, 2010).

Determinación de calidad y concentración del ADN

Para conocer si el ADN extraído es de buena calidad, se utilizan estrategias como la electroforesis en gel de agarosa para observar la integridad del material genético y/o la amplificación mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de un gen endógeno o constitutivo.

Para determinar la concentración de ADN, se aplica la Ley de Beer-Lambert que indica que la concentración de una molécula en solución depende de la cantidad de luz absorbida de las moléculas disueltas (Alejos L. et al). Los ácidos nucleicos pueden cuantificarse directamente en soluciones acuosas midiendo la absorbancia (A) de luz ultravioleta (UV). Esto se debe a que están formados por bases nitrogenadas aromáticas capaces de absorber este tipo de luz. Para la cuantificación se mide la absorción de la luz UV de una solución de ácido nucleico a 260nm que es la longitud de absorbancia máxima.

PARTE EXPERIMENTAL

El método utilizado para obtener material genético de *Drosophila melanogaster* fue el salting-out con modificaciones. Se utilizaron de 100 a 200 larvas en tercer estadio y 100 moscas adultas suspendidas en solución de conservación (NaCl 128 mM, KCl 4.7 mM, CaCl₂ 1.9 mM) y mantenidas en congelación hasta el día de la extracción. Se realizó homogenización de la muestra, con posterior centrifugación 10 000 rpm x 1 min. El pellet se resuspendió en 100 µL de buffer homogenizador y se le adicionaron 250 µL de proteinasa K, 100 µL de SDS al 10% y Tris-EDTA (Tris 0.05M y EDTA 0.005M), se mantuvo la muestra 60°C x 2 h, pasado el tiempo se les agregó 250 µL de NaCl 6M y se centrifugaron a 10 000 rpm x 15 min, se separaron las dos fases y se realizaron tres precipitaciones del ADN la primera con etanol absoluto frío, seguido de etanol frío al 70% y finalmente con etanol absoluto frío, entre cada precipitado se realizaron centrifugaciones de 15, 5 y 5 min respectivamente. El botón de ADN se disolvió en 50 µL de TE 1X y se almacenaron a -20 °C.

Para analizar la integridad del ADN se realizó un corrimiento electroforético en agarosa al 0.8% y se visualizó mediante el fotodocumentador Bio-Rad GelDoc™ EZ.

La concentración de ADN extraído se determinó espectrofotométricamente a 260 nm con el equipo JENWAY 7305 Spectrophotometer y la comparación de la concentración de ADN se realizó calculando promedio y desviación estándar (DS).

RESULTADOS

De todas las muestras utilizadas, se obtuvo material genético, en la Fig.2 se muestran las imágenes digitalizadas de los geles, se puede apreciar que las muestras presentaron poca/nula fragmentación.

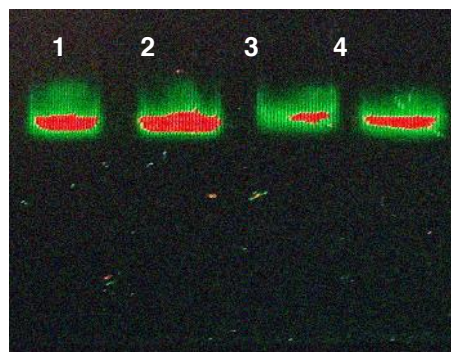


Figura 2. Electroforesis de los productos de ADN. Carril 1: 150 moscas; 2: 200 moscas; 3: 150 larvas; 4: 200 larvas.

La cuantificación de los productos de la extracción (tabla 1) mostró que las concentraciones más altas correspondían al adn extraído a partir de las larvas en tercer estadio, esto se puede atribuir a que las larvas presentan menor cantidad de tejido permitiendo que el proceso de lisis sea más rápido en estas logrando una mayor liberación de los ácidos nucleicos. También se observó cómo los resultados de la cantidad de adn extraído varían conforme varía el número de muestra empleada, teniendo en cuenta que la cantidad de adn es una característica importante dado a que de ella depende el éxito de los ensayos posteriores.

Tabla 1. Concentración de ADN extraído a partir de *Drosophila melanogaster*

Muestra	No. individuos	Absorbancia	Concentración de ADN ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	Desviación Stándar	Media
Larvas	150	0.244	1.822	0.03899	1.783
	200	0.233	1.744		
Moscas	150	0.255	1.902	0.293	1.609
	200	0.176	1.316		

CONCLUSIONES

La modificación realizada al método de salting-out para la extracción de ADN a partir de moscas adultas y larvas de tercer estadio, disminuyó el tiempo en el proceso de extracción, el costo al no requerir de reactivos adicionales, y el riesgo al no utilizar sustancias tóxicas o peligrosas para la salud y el ambiente. Una de las principales ventajas de las modificaciones realizadas al método es que se puede hacer la extracción a partir de moscas adultas sin la necesidad de quitarle sus extremidades como lo hacen comúnmente y sin tener que hacer la disección de la larva para poder extraer las glándulas salivales agilizando y simplificando el proceso de homogenización. También se obtuvo una buena cantidad de ADN en la extracción, así como una buena integridad reflejada en el análisis de electroforesis, de tal manera que resulta un método factible para la extracción de ADN de *Drosophila melanogaster*.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alejos –Velázquez L., Aragón-Martínez M., Cornejo-Romero A., Extracción y purificación de ADN. Herramientas moleculares aplicadas en ecología, 2014.
2. Blaise Bosssy, Lucida M.C. Hall y Pierre Spierer, Genetic activity along 315 kb of the *Drosophila* cromosome. The EMBO Journal Vol. 3 no.11 pp.2537-2541, 1984.
3. Calperna-Corpas, Eduardo L. *Drosophila* como modelo para patologías genéticas .Prácticas en Valentia Biopharma, 2008.

4. Llorens-Llorens, J. V., Estudio en *Drosophila melanogaster* del efecto de la reducción y la sobreexpresión de la proteína deficitaria en la ataxia de Friedreich. Universitat de Valencia, Servei de Publicacions, 2009.
5. Mayorga-Barragán S., Monsalve-Agudelo P. y Peña-Agudelo J., Informe Extracción DNA (Pellet Celular) y Electroforesis. Universidad Industrial de Santander, 2015
6. Ritossa F.M. y Spiegelman S., Localisation of DNA complementary to Ribosomal RNA in the nucleolus organizer region of *Drosophila melanogaster* Genetics, Vol. 53,1965
7. Rosero D.A, Gutiérrez L.A., Cienfuegos A. V., Jaramillo L. M. y Correa M.M., Optimización de un procedimiento de extracción de ADN para mosquitos anofelinos, Revista Colombiana de Entomología 36 (2): 260-263, 2010.
8. Santillana M., Portiansky E. L., Ferrero P. V., *Drosophila Melanogaster*, an Emerging Animal Model for the Study of Human Cardiac Diseases. Rev Argent Cardiol, 84;406-411, 2016.
9. Valadez- Graham V.C., Aislamiento de DNA genómico de *Drosophila melanogaster*. Práctica experimental.

ESTUDIO ESPECTROFOTOMÉTRICO DE NONILFENOL EN PRODUCTOS DE LIMPIEZA

María del Carmen Morales González, Diana Mendoza Olivares, Fernando de Jesús Amézquita López.

Universidad de Guanajuato.

RESUMEN

Se realizó el estudio Espectrofotométrico UV-VIS e Infrarrojo por Transformada de Fourier, de 47 muestras de categorías de limpiadores y detergentes para detectar la presencia de nonilfenol etoxilado. Diversos estudios demuestran que los alquilfenoles presentan una alta actividad estrogénica (aumento del riesgo cáncer, malformación del desarrollo, alteración del sistema inmune) y causan múltiples efectos en el ecosistema, incluso a bajas concentraciones, generalmente por debajo de los límites de exposición establecidos. No existe ninguna regulación en las Normas Oficiales Mexicanas en su uso o comercialización en el país. El espectro del nonilfenol etoxilado presenta tres señales características a (199.06, 223.82 y 275.36) nm. La medición de la absorbencia se realizó en 276 nm y se construyó una curva de calibración. El límite de cuantificación y el límite de detección obtenido fue de 0.6 mg/L, y de 0.17 mg/L, respectivamente. Se realizó el análisis de 47 muestras de 4 categorías: Detergentes lavatrastes (12), limpiadores de pisos (16), limpiadores de superficies (9) y jabón para manos (10). De las cuales, 9 muestras contenían nonilfenol etoxilado, es decir, el 19,15% de las muestras totales analizadas. El porcentaje más bajo se situó en el valor de 0,21 %p/v, mientras que el más alto tenía una cifra de 2,02 %p/v; así pues, el promedio de los datos analizados correspondería a (1,03 +/- 0,59) %p/v, con un nivel de confianza del 95%. Se realizó un estudio estadístico con 47 personas para determinar la cantidad en mL del limpiador de pisos que suelen utilizar, encontrándose que el volumen promedio es de (87.95 ± 20.34) mL, correspondiente a una cubeta de aproximadamente 20 L, esto significaría que en una población de 100 000 habitantes se desearía cerca de 1 kg de nonilfenol etoxilado por cada cubeta.

INTRODUCCIÓN

Los agentes tensoactivos son compuestos químicos que al disolverse en agua o en otro disolvente se orientan a la interfase entre el líquido y una fase sólida, líquida o gaseosa, modificando las propiedades de la interfase. Las modificaciones pueden estar acompañadas por formación de espuma y de coloides, emulsiones o suspensiones, dispersiones, aerosoles o espumas.

Los detergentes son sustancias químicas que tienen la capacidad de deshacer o separar la suciedad que está en la superficie de un objeto sin corroerlo ni dañarlo y se les conoce como agentes limpiadores. A diferencia de los jabones, los detergentes mantienen su capacidad limpiadora incluso en aguas duras. Esta capacidad los volvió sumamente populares para el lavado de ropa.

Los alquilfenoles polietoxilados (APEOs) son compuestos químicos utilizados frecuentemente como detergentes domésticos, industriales, en textiles y en el desengrase del cuero. Como tensoactivos en pintura, agroquímicos y varios plásticos. Los más comercializados son el octilfenol y nonilfenol polietoxilados (NPE).

Existen diversos estudios que demuestran que los alquilfenoles presentan una alta actividad estrogénica y causan múltiples efectos en el ecosistema, incluso a bajas concentraciones, en general muy por debajo de los límites de exposición establecidos. La gravedad a la que pueden llegar los daños por exposición a dichos agentes hace que deban calificarse como sustancias especialmente peligrosas y que deban evitar los riesgos derivados de la exposición.

En las últimas dos décadas ha habido una mayor conciencia de los posibles efectos adversos en los seres humanos y en la vida silvestre debido a la exposición a productos químicos que pueden interferir con el sistema endócrino. Estos efectos pueden incluir:

- Malformaciones del desarrollo,
- Interferencia con la reproducción,
- Aumento del riesgo de cáncer; y
- Alteraciones en la función del sistema inmune y nervioso.

La Agencia de Protección del Medio Ambiente de Estados Unidos define a estos compuestos como agentes exógenos que interfieren en la síntesis, secreción, transporte, acción o eliminación de hormonas naturales en el cuerpo que son responsables del mantenimiento de la homeostasis,

reproducción, desarrollo y/o comportamiento. El catálogo de alteradores endócrinos o disruptores endócrinos es muy amplio y crece día a día, dicho catálogo comprende desde sustancias que se encuentran de manera natural en el medio ambiente hasta productos químicos sintetizados por el hombre como hormonas sintéticas, nonilfenol, ftalatos, etc. Cuando los alteradores endócrinos ambientales o disruptores endócrinos, mimetizan o interfieren con la acción de las hormonas endógenas, tienen el potencial de influir en la salud humana y ejercer significativos efectos ecológicos dada su capacidad de actuar a diferentes niveles. Así pues, deterioran el control hormonal al:

- Alterar la síntesis hormonal
- Alterar el almacenamiento y/o liberación hormonal
- Alterar el transporte y depuración hormonal
- Alterar la identificación y enlace con el sitio receptor
- Alterar la respuesta hormonal debida a la activación del sitio receptor.

La prioridad debe ser su eliminación o sustitución y sólo en caso de que esto no sea técnicamente posible se deberían adoptar otras medidas para la reducir la exposición. Además que no solo actúan con las especies expuestas directamente sino que alteran a su descendencia.

Los nonilfenoles polietoxilados están entre los tensoactivos más utilizados de nuestro país, sin regulación alguna, en productos tan cotidianos como los detergentes domésticos.

Cabe aclarar que, en México, así como en América Latina, no está regulado el uso del nonilfenol etoxilado, es decir no existe ninguna Norma Oficial Mexicana que restrinja o prohíba su uso, en los productos que son comercializados en el país.

PARTE EXPERIMENTAL

Los reactivos utilizados fueron: Nonilfenol, marca Sigma Aldrich, nonilfenol etoxilado (tergitol NP9), Sigma Aldrich, Metanol grado HPLC, marca J. T. Baker y agua tipo I (resistividad 18,2 M Ω ·cm). Los equipos utilizados fueron: Espectrofotómetro UV-VIS Lambda 40 de PerkinElmer. Espectrofotómetro Infrarrojo por Transformada de Fourier Spectrum 100, con accesorio de reflectancia total atenuada (ATR universal) de PerkinElmer. Detector DTGS resolución 4 cm⁻¹ alcance de (4000 a 650) cm⁻¹. Se prepararon soluciones de referencia utilizando nonilfenol y nonilfenol etoxilado (tergitol NP 9) de la marca Sigma Aldrich, para realizar el análisis mediante espectrofotometría UV en el alcance de longitudes de onda de (190-400) nm. Se determinó la concentración del nonilfenol etoxilado mediante una curva de calibración espectrofotométrica preparando soluciones de nonilfenol etoxilado de (5-544) mg/L, medidos a una longitud de onda de 276 nm. Se realizó el análisis de cada muestra, preparando una dilución apropiada de las mismas en Metanol/Agua 5% v/v. Así mismo fue realizado el análisis por Espectrofotometría infrarroja por Transformada de Fourier utilizando el accesorio de ATR de diamante, las muestras fueron secadas previamente para eliminar el agua en una temperatura aproximada de 40±2 °C durante 12 horas, para la corroboración de la presencia del nonilfenol etoxilado en sus ingredientes.

RESULTADOS

El espectro del nonilfenol etoxilado presenta tres señales características a (199.06, 223.82 y 275.36) nm, el cual se muestra en la (Figura 1):

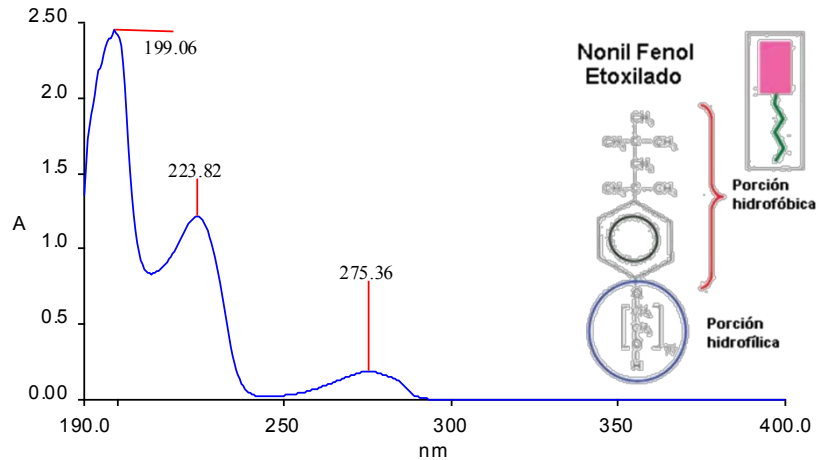


Figura 10: Espectro de absorción de nonilfenol etoxilado NP9 100ppm en metanol/agua 5% v/v

El espectro ultravioleta del benceno muestra tres bandas distintivas, se les conoce como E_1 , E_2 y B, de las que sólo son observables en el rango de trabajo la E_2 , la B y la banda R. La sustitución del anillo con grupos que contienen electrones de no enlace o electrones π adyacentes al anillo, causarían cambios rojos en la banda primaria.

$$\lambda_{M\acute{A}X} = 275.36nm$$

Al ser analizado el espectro ultravioleta anterior se llevó al cabo la determinación de la presencia de nonilfenol etoxilado en las distintas categorías de las muestras, sobreponiendo con el espectro anteriormente mostrado, esperando encontrar una coincidencia en la longitud de onda máxima que se observa en aproximadamente (275-276) nm(Figura 2). El resultado fue el siguiente:

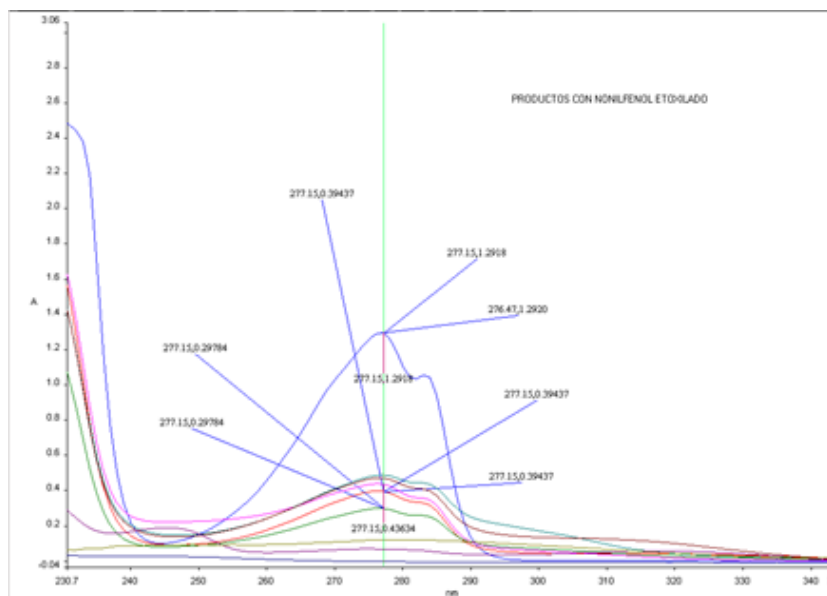


Figura 11: Espectros de absorción de productos con presencia de nonilfenol etoxilado

Obteniéndose así, 9 productos positivos en presencia de Nonilfenol; como se puede observar la longitud máxima de onda observada oscila entre (275-276) nm, lo cual confirma la presencia de nonilfenol etoxilado en las muestras seleccionadas.

Entonces, la medición de la absorbencia se realizó en 276 nm y se construyó la curva de calibración que se muestra a continuación (Figura 3); se observa en el gráfico la concentración del nonilfenol etoxilado contra la absorbencia.

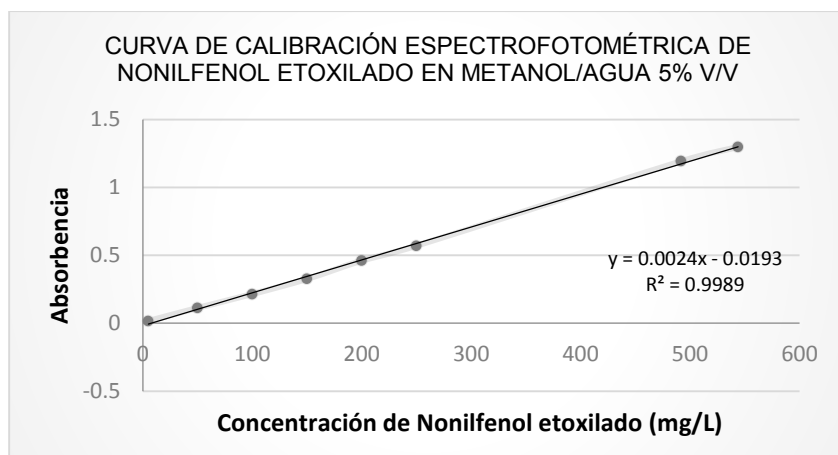


Figura 12: Curva de calibración espectrofotométrica de nonilfenol etoxilado en metanol/agua 5% v/v

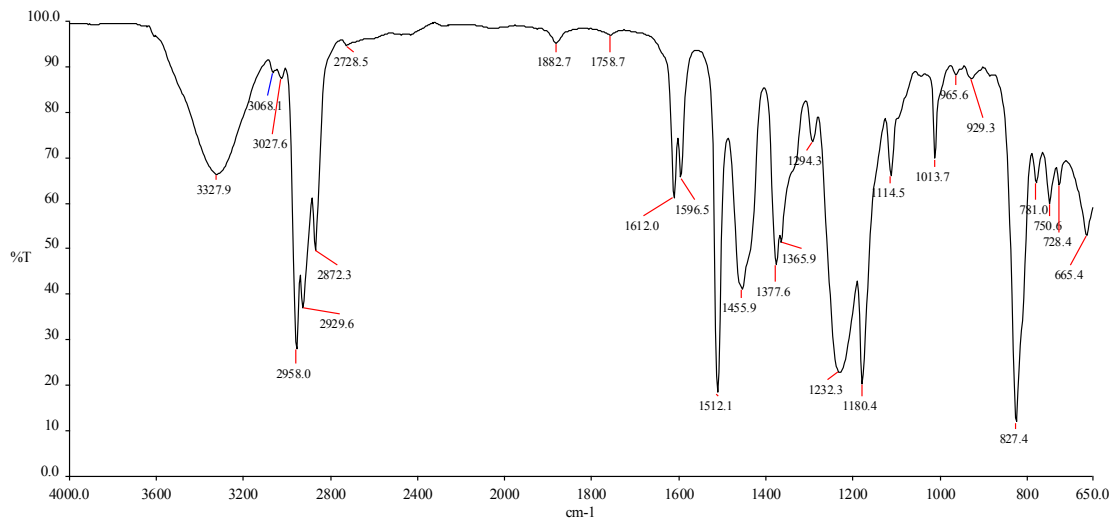
El intervalo de concentración de (5 a 544) mg/L obedece la Ley de Beer, según la ecuación lineal $[A=0,0024 [NPE] - 0,0193]$ con factor de correlación de 0,9989. El límite de cuantificación y el límite de detección obtenido fue de 0.6 mg/L, y de 0.17 mg/L, respectivamente.

Se realizó el análisis de 47 muestras divididas en 4 categorías: Detergente para lavatrastes (12), limpiadores de pisos (16), limpiadores de superficies (9) y jabón para manos (10). De las cuales, 9 muestras contenían nonilfenol etoxilado, es decir, el 19.15% de las muestras totales analizadas. El porcentaje más bajo detectado se situó en el valor de 0,21 %p/v, mientras que el más alto tenía una

cifra de 2,02 %p/v, así pues, el promedio de los datos analizados correspondería a $(1,03 \pm 0,59)$ %p/v, con un nivel de confianza del 95%.

Posteriormente se realizó un estudio estadístico con 47 personas para determinar la cantidad en mL del limpiador de pisos que suele utilizar comúnmente, encontrándose así que el volumen promedio es de (87.95 ± 20.34) mL, correspondiente a una cubeta de aproximadamente 20 L. Ahora bien, si realizamos un cálculo aproximado de la cantidad que utiliza una población de 100 000 habitantes y que realizan limpieza en el hogar con un producto que contenga el nonilfenol etoxilado utilizando una cubeta de 20 L, encontraríamos que se desecha cerca de 1 kg de nonilfenol etoxilado que llega a contaminar las aguas residuales de una población urbana y que aún con la planta de tratamiento de aguas del lugar el nonilfenol etoxilado es degradado a nonilfenol que es aún mucho más tóxico para el organismo expuesto a él y el medio ambiente.

Después del análisis por espectrofotometría UV-VIS, se analizaron por espectroscopía infrarroja cada de una de las muestras en busca de las señales características del nonilfenol las cuales corresponden a 2872.3 (vibración v alargamiento C-H); 1512.1(vibración v alargamiento C=C); 1455.9(vibración v alargamiento C-H) cm^{-1} (figura 4):



Así mismo, se localizaron las señales del nonilfenol etoxilado que correspondieron a 2868.9 (vibración ν alargamiento C-H); 1511.6 (vibración ν alargamiento C=C); 1456.7 (vibración ν alargamiento C-H); 1248 (vibración ν alargamiento C-O) cm^{-1} (figura 5). Encontrándose éstas, en las 9 muestras positivas mencionadas anteriormente.

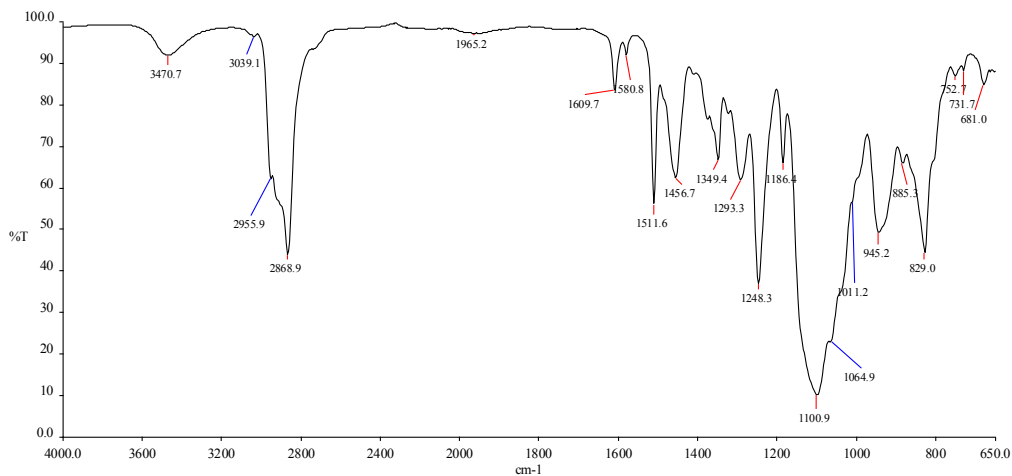


Figura 14: Espectro IR de nonilfenol etoxilado en ATR

CONCLUSIONES

Después de realizada la investigación se concluye entonces, que cerca del 20% de los productos analizados contenían nonilfenol etoxilado, lo cual por sí solo representa ya un riesgo a la salud pública y del medio ambiente. Lamentablemente en la búsqueda de Normas Oficiales Mexicanas de la calidad del agua, y/o los productos comercializados en el país no se encontró ni restricciones, ni prohibiciones, ni tampoco ninguna advertencia.

En el diario Oficial de la Unión Europea del 2003 marca que no se pueden poner o usar como sustancias o constituyentes el nonilfenol o los etoxilados del nonilfenol, en concentraciones iguales

o superiores al 0.1% en masa para los usos de limpieza industrial, institucional, limpieza doméstica, tratamiento de textiles y del cuero, emulsionantes en la ganadería para lavado de pezones por inmersión, metalurgia, fabricación de pasta de papel y de papel, productos domésticos y otros productos para el cuidado personal, o como coadyuvante en plaguicidas o biocidas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Harold A. Wittcoff; Bryan G. Reuben. (1997). Agentes Tensoactivos. Productos Químicos Orgánicos Industriales. Vol.2 Tecnología, Formulaciones y Usos (207). México, DF: LIMUSA NORIEGA EDITORES.
2. Calafat, A. M., Kuklennyik, Z., Reidy, J. A., Caudill, S. P., Ekong, J., & Needham, L. L. (2005). Urinary Concentrations of Bisphenol A and 4-Nonylphenol in a Human Reference Population. *Environmental Health Perspectives*, 113(4), 391–395.
3. Centeno Romero Miguel Ángel. (2014). Capítulo 1: Generalidades. en degradación de nonilfenol polietoxilado en agua por medio del proceso fotofenton. Tesis IPN. México, D.F.

IMPACTO DE LAS ACTIVIDADES HUMANAS EN EL GERMOPLASMA DEL EJIDO EL PARAÍSO, OAXACA.

Minerva González Ibarra, Aída Malpica Sánchez, Pedro Angeles Juárez y Rosario Vargas Solís.

Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco. mgibarra@correo.xoc.uam.mx

RESUMEN

Cada día aumenta el interés por conocer y conservar las selvas tropicales, que junto con su regeneración constituyen una necesidad para el país, no únicamente por el significado que adquiere en la utilización de recursos naturales sino que es un ecosistema que puede desaparecer por la intensidad con la que se hace uso de este recurso. En este estudio, analizamos los cambios en la riqueza de especies y abundancia en el germoplasma del ejido El Paraíso, bajo por diferentes sistemas de manejo. Se establecieron cuatro áreas (selva, acahual, cultivo y pastoreo) con diferente manejo dentro del ejido. Se realizó un muestreo de bloques al azar, muestreándose el 5% del área total. Se cuantificó la riqueza y abundancia relativa de especies en cada una de las áreas en estudio. Calculándose la biodiversidad y la equitatividad de especies de cada área a través del índice de Shannon-Wiener para su comparación. Analizando nuestros datos muestran una relación significativa entre la biodiversidad del germoplasma y el tipo de manejo del hábitat. Determinando una disminución en la biodiversidad del germoplasma a medida que aumenta la intensidad en el uso del ecosistema, determinándose una mayor diversidad en la selva>acahual >cultivo> pastoreo. Podemos concluir que los índices de biodiversidad son un buen parámetro para estimar el efecto de las actividades humanas en los ecosistemas, ya que reflejan su efecto en la composición y abundancia de las especies.

INTRODUCCIÓN

El bosque húmedo tropical o selva es el tipo de ecosistema más complejo y exuberante de todos los que existen en el planeta, pues en los lugares donde se establece existen pocas limitantes para el desarrollo de la cubierta vegetal la mayor parte del año. Las selvas son extremadamente complejas, presentan una gran diversidad y gran número de redes tróficas, esto último se debe principalmente a que también poseen una de las tasas más altas de productividad, ya que no hay factores limitantes en el medio ambiente; a su vez el medio ambiente propicia que el reciclado de nutrientes sea muy rápido; esto puede constituir una desventaja para estos bosques ya que cualquier perturbación se ve expresada inmediatamente en algunos de los componentes del ecosistema, sin embargo la gran diversidad que presenta funciona como un mecanismo homeostático y las especies que se vieron afectadas son sustituidas por otras.

Pero a pesar de todo, estos ecosistemas han ido cediendo ante la presión humana ya que desde antaño el hombre ha contemplado a este recurso natural como una fuente inagotable por su exuberancia y rápido crecimiento, pero la desaparición irremediable y progresiva de muchas especies va afectando de un modo definitivo a las selvas. Con el incremento de las poblaciones humanas, cada vez más zonas de bosques tropicales se han ido perdiendo. Anteriormente se utilizaba el sistema de roza-tumba y quema que no era muy perjudicial pues después de algunas cosechas se abandonaba, dando tiempo para la regeneración de la vegetación original; sin embargo, el problema más grande surgió cuando se empezó a utilizar maquinaria para desmontes masivos con fines de agricultura extensiva y/o ganadería, en este caso las especies vegetales se perdían incluyendo el germoplasma, además de una progresiva pérdida de nutrientes y de suelo por efecto de la erosión. Por otra parte la explotación de maderas corrientes para la fabricación de papel, y al mismo tiempo de maderas preciosas para ebanistería y construcción, no solo han acabado con las especies maderables, sino con la economía de las regiones tropicales, pues la explotación en todos los casos ha sido exhaustiva y devastadora. En este estudio, analizamos los cambios en la riqueza de especies producidas por la pérdida y/o modificación del hábitat en el Ejido Paraíso, Oaxaca. Es necesario contar con información del estado de la flora del Ejido Paraíso y contribuir al análisis sobre la vegetación del lugar, así como generar información sobre las diferentes formas de manejo.

PARTE EXPERIMENTAL

El ejido Paraíso Tuxtepec, Oaxaca, se encuentra ubicado al NE del Estado, sobre la planicie costera del Golfo de México, en las últimas estribaciones de la Sierra de Juárez, aproximadamente en el paralelo 18°22' N y el meridiano 95° 23' W. Tiene una precipitación media anual de 2115.6 mm y una temperatura media anual de 26.6 °C, el suelo está constituido por litosoles de origen kárstico. El tipo de comunidad vegetal que ocupa esta región es de bosque tropical subperenifolio; este tipo de comunidad se caracteriza porque una parte de las especies dejan caer las hojas durante la temporada de sequía que abarca aproximadamente de febrero a mayo, pero hay muchas otras especies que sólo pierden sus hojas por algunas semanas, en consecuencia, esta comunidad presenta cierto verdor aún en las temporadas más secas del año.

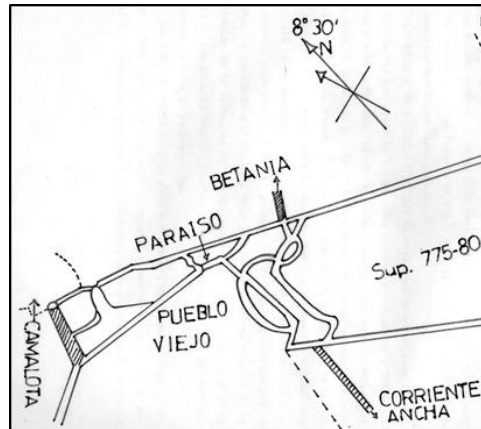


Fig.1 Mapa de Localización del Ejido Paraíso, Tuxtepec, Oaxaca.

En este estudio, analizamos los cambios en la riqueza de especies y abundancia en el germoplasma del ejido El Paraíso, bajo por diferentes sistemas de manejo. Con el objetivo de establecer el efecto que tiene el manejo de la selva por el hombre, sobre la regeneración de este ecosistema tropical; a través de la comparación del germoplasma en las diferentes formas de manejo. Se establecieron cuatro áreas con diferente grado de manejo dentro del ejido Paraíso, considerándose un área de selva original, un acahual de 4 años, un área de cultivo y un área de pastoreo. En cada una de las áreas se realizó un muestreo de bloques al azar, se muestreo el 5% del área total. Se cuantificó la riqueza y abundancia relativa de especies en cada una de las áreas en estudio. Calculándose la biodiversidad y la equitatividad de especies de cada área a través del índice de Shannon-Wiener y de Pielou para su comparación.

$$H = - \sum_{i=1}^S (p_i)(\log_2 p_i)$$

Fig. 2 Fórmula para calcular el Índice de Biodiversidad de Shannon Wiener.

RESULTADOS

En relación a la riqueza de especies, se encontraron un total de 68 diferentes especies, de las cuales 33 en selva, 31 en vegetación secundaria (acahual de 4 años), 17 en el cultivo y 17 en el área de pastoreo. En la Tabla 1 se muestran los resultados obtenidos. De acuerdo al índice de biodiversidad de Shannon-Wiener, se determinó que la gran biodiversidad en la selva ($H = 1.22$) disminuye drásticamente al ser eliminada, comparado con el acahual ($H = 0.52$). Encontrándose también una mayor equitatividad de las especies en la selva, según Pielou ($E = 0.807$). De acuerdo a este índice, todas las especies se encuentran igualmente representadas. El índice de Pielou en el acahual es de

$E=0.348$, indicándonos que algunas especies son mucho más abundantes que otras, disminuyendo así la equitatividad. Observamos también que de acuerdo al manejo e intensidad en el uso del recurso, disminuye la biodiversidad en el hábitat, comparar los resultados entre área de cultivo y el área de pastoreo. Ambas presentan la misma riqueza de especies.

Analizando nuestros datos muestran una relación significativa entre la biodiversidad del germoplasma y el tipo de manejo del hábitat. Determinando una disminución en la biodiversidad del germoplasma a medida que aumenta la intensidad en el uso del ecosistema, determinándose una mayor diversidad en la selva > acahual > cultivo > pastoreo. Para que un área perturbada pueda regenerarse depende de la presencia de semillas y propágulos recientes de especies primarias. El germoplasma es de vital importancia para la regeneración de la selva y su continuidad.

Tabla 1. Comparación de los parámetros de Biodiversidad en las áreas en estudio en el Ejido Paraíso, Oaxaca

Parámetro	Selva	Acahual	Cultivo	Pastoreo
Riqueza	33	31	17	17
Abundancia	271	1095	227	185
H	1.22	0.52	0.75	0.83
E	0.807	0.348	0.609	0.674

H= índice de Biodiversidad de Shanon-Wiener

E= Índice de Equitatividad de Pielou

CONCLUSIONES

Al aumentar el grado de presión humana sobre la selva en el ejido Paraíso, Oaxaca., disminuye el número de especies y su abundancia en el banco de semillas, ya que el manejo irracional al que se somete a la selva está acabando con el germoplasma que es la base para la regeneración. Podemos concluir que los índices de biodiversidad son un buen parámetro para estimar el efecto de las actividades humanas en los ecosistemas, ya que reflejan su efecto en la composición y abundancia de las especies.

BIBLIOGRAFÍA

1. T.D. Pennington y J. Sarukhan, *Árboles Tropicales de México. Manual para la identificación de las principales especies* (UNAM- Fondo Cultura Económica, México, 2005), 523 pp.
2. C.J. Krebs, *Ecología, Estudio de la distribución y abundancia* (Harper & Row Latinoamericana, México, 1999), Capítulo 23, pp. 495-523.
3. K. Esau, *Anatomy of Seed Plants* (John Wiley & Sons Inc., New York, NY, 1987), Capítulo 23, pp. 455-473
4. J.P. Grime, *Estrategias de Adaptación de las Plantas* (Editorial Limusa S.A., México, 2010) Capítulo 3, pp 105-176.

CARACTERIZACIÓN DE EXTRAIBLES PRESENTES EN LAS ACÍCULAS DE PINO OAXACANA.

Grecia Denisse Contreras Niño¹, Adelaida López Gómez¹, Griselda Sánchez Cortés², Reina Martínez Ruíz², Juana Martínez Amaya², Emma Gómez Vázquez² y Abril Munro Rojas¹

¹. Laboratorio de Calidad de la Brea, aguarrás y derivados, Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

². Artesanías Aromáticas Unión de Cooperativas de Responsabilidad Limita y de Capital Variable

RESUMEN

Oaxaca posee una gran riqueza forestal, siendo el pino, el género dominante en sus bosques, el interés de evaluar químicamente las acículas de pino oaxacana se debe a que en el municipio de San Francisco Coatlán existe un grupo de mujeres artesanas que utiliza las acículas de pino para elaborar diversas artesanías como: collares, aretes floreros, tapetes, etc. Requieren un mejor manejo de sus recursos forestales, por lo cual es importante realizar una caracterización de las acículas de pino, observar que tipo de extraibles contiene, determinar si existe algún componente que nos sirva para aromaterapia. Se realizarán extracciones sucesivas con hexano, acetato de etilo, acetona y agua. Respectivamente los extractos obtenidos serán llevados a un cromatógrafo de gases. En la literatura los estudios relacionados con la composición química de la trementina en acículas y madera son escasos (Sjödin *et al.*, 1996, 2000; Kleinhentz *et al.*, 1999; Latta *et al.*, 2000). Dentro de los componentes que poseen las oleorresinas se encuentran los sesquiterpenos (C₁₅). En las muestras tratadas se detectó la presencia sustancias análogas al cadineno, de alguna posible importancia comercial, ya que se emplean como fijadores (porta-aromas) en la industria de la perfumería este resultado y la subsecuente determinación de los rendimientos, permitirá darle un valor agregado a un subproducto y de esta manera fomentar el cuidado de nuestros bosques sin la necesidad de derribar el árbol en pie.

INTRODUCCIÓN

El género *Pinus* es el más grande de la familia Pinaceae con cerca de 120 especies reconocidas. Hay alrededor de 65 especies en centro y Norte-América, de las cuales 43 están representadas en México (Farjon y Styles, 1997), razón por la cual México es considerado el país más rico en especies de pinos del mundo. Más aún, si se toman en cuenta variedades y formas reconocidas, el número de taxa aumenta a aproximadamente a 70 (Perry, 1991).

La resina de pino es una mezcla compleja de terpenos, lignanas, silbanas, flavonoides y otros compuestos aromáticos, grasas, ceras, ácidos grasos, alcoholes y esteroides, así como hidrocarburos de cadena larga. Los terpenos son compuestos volátiles que forman parte de los aceites esenciales, y son los responsables del olor característico del pino; representan una gran variedad de productos naturales, y se han identificado más de 7 500 estructuras (Fengel y Wegener, 1989). Tienen aplicaciones muy diversas, y gran demanda por parte de la industria química-farmacéutica, cosmética, textil y para la elaboración de artículos de limpieza (Bakkali *et al.*, 2008; Raut y Karuppaiyil, 2014).

Algunas comunidades del estado de Oaxaca las acículas de pino oaxacana es la parte clave para su económica y para el manejo forestal sustentable, por lo cual les surge el interés de aprovechar el residuo que obtienen después del proceso de las acículas para la elaboración de artesanías y es la obtención de aceites esenciales para ello requieren un análisis de los extractos presentes en las acículas con diferentes solventes. Hay tres formas de recolección de acículas que son; directamente tomadas del suelo, otra es la recolección de las acículas de árboles que han sido aprovechados en madera en rollo ya que cuentan con un permiso de aprovechamiento de madera y raras veces en árboles en pie de los rodales seleccionados para su aprovechamiento maderable.



Figura 1. Artesanías elaboradas con acículas de pino oaxacana

PARTE EXPERIMENTAL

Las acículas de pino para investigación, fueron proporcionadas por la comunidad de mujeres artesanas de San Francisco Coatlán, en Oaxaca. El procedimiento para extracción fue el siguiente. Las acículas verdes, fueron molidas en un molino Wiley de acuerdo con la norma T-157 (TAPPI, 2000), obteniendo la harina, la cual se clasificó con tamices, para el análisis químico se empleó la fracción que pasó por la malla 40 ($420\mu\text{m}$) y que fue retenida en malla 60 ($250\mu\text{m}$).

Una vez obtenida la harina, se pesaron 10 g, se colocaron en el dedal y se comenzó la extracción con solventes de polaridad creciente (Hexano, Acetato de etilo, Acetona y Agua), utilizando un sistema continuo en equipo Soxhlet, por un periodo de 5 horas excepto el que se realizó con agua con una duración de 9 horas. Los extractos se recuperaron evaporando los solventes utilizados en la secuencia llevándolos a baño maría considerando el punto de ebullición de cada solvente. Evaporados los solventes, los matraces se colocaron en el horno de secado, pasan al desecador durante 15 minutos, posteriormente se pesan en una balanza analítica, obteniendo los pesos, se obtiene el extracto y se guarda en viales de vidrio para su análisis.

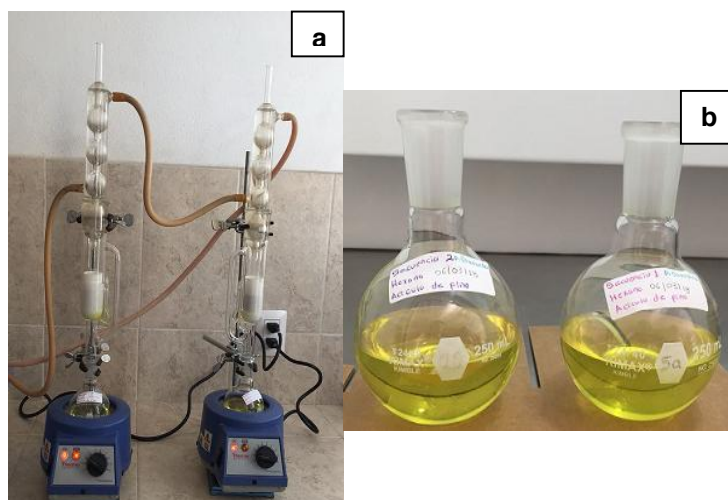


Figura 2. a) extracción con el equipo soxhlet y b) extracto obtenido

RESULTADOS

El porcentaje de extracto obtenido con cada solvente quedó de la siguiente manera para el hexano fue del 7.2 %, el de acetato de etilo del 6.48%, con acetona del 7.45% y para el agua del 10.31%

dando un total del 31.55 % de extracto en acículas. Las extracciones se realizaron por triplicado, únicamente se presentan los promedios obtenidos con cada solvente.

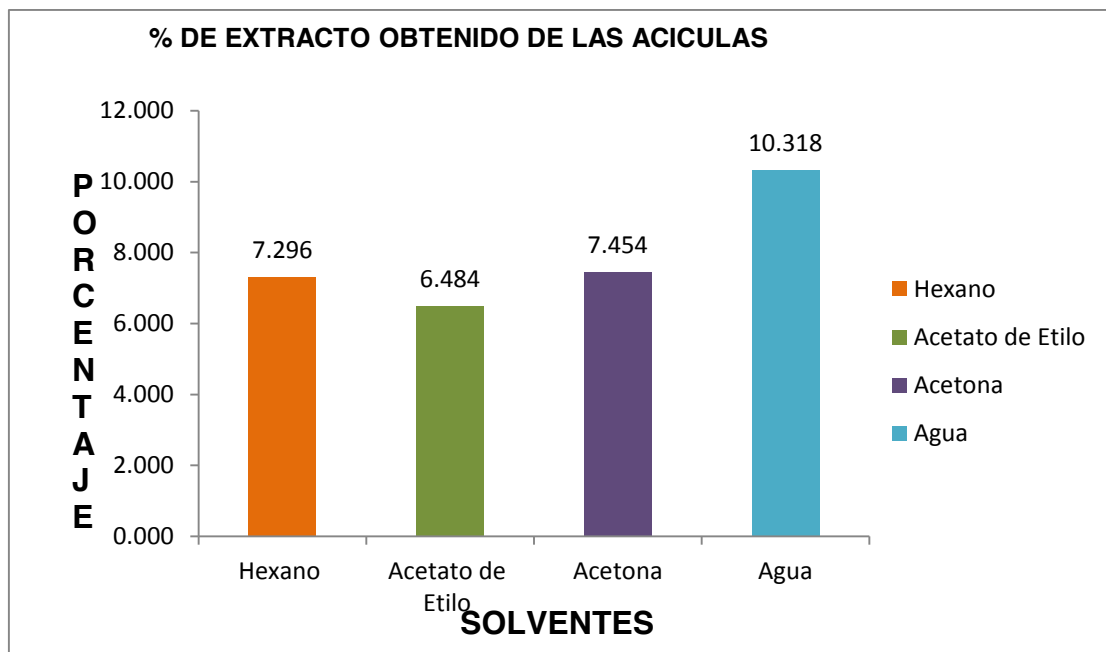


Figura 3. Representación de los porcentajes obtenidos en las acículas de pino oaxacana con los diferentes solventes utilizados durante la extracción con equipo soxhlet.

CONCLUSIONES

El solvente con el que se obtuvo un mayor porcentaje de extractos fue la del agua que corresponde a 10.31% del cual se obtienen extractos acuosos como taninos cabe mencionar que la extracción se tuvo que ampliar a cuatro horas más en comparación los tres extractos que con cinco horas fueron suficientes y con acetona del 7.45% que se obtienen ceras y gomas.

El porcentaje total de extracto en acículas es del 31.55 % aproximadamente en comparación con la madera que es del 10 al 12 % y con acetona del 7.45%. Aunque aún falta conocer los componentes presentes en cada solvente, identificar el cadineno y el porcentaje que está presente en las acículas, con un análisis en espectroscopia de masas de cada extracto, se caracterizarán los componentes en busca de opciones comercialmente viables para la comunidad.

Cabe mencionar que debido a la gran variabilidad de productos que las artesanas elaboran desde piezas grandes a pequeñas, la materia prima no será un problema, ya que de los residuos que quedan de la elaboración de las artesanías se podrán utilizar para obtención de aceites esenciales.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Farjon y B.T Styles. 1997. *Pinus*, Flora Neotropica Monograph 75. The New York Botanic Gardens, New York.
2. D. Fengel and G. Wegener. 1989. Wood: chemistry, ultrastructure, reactions. Walter De Gruyter Inc. New York, NY, USA. 613 p.
3. F. Bakkali, S. Averbeck, A. Averbeck and M. Idaomar. 2008. Biological effects of essential oils – a review. Food and Chemical Toxicology 46: 446–475.
4. J. P. Perry. 1991. The Pines of Mexico and Central America. Timber Press Inc. Portland, Oregon.
5. J. S. Raut and S. M. Karuppayil. 2014. A status review on the medicinal properties of essential oils. Industrial Crops and Products 62: 250–264.

6. K. Sjödin., M. Persson, , J Fäldt.,I. Ekberg And A. Karlson – K. Borg 2000. Ocurence and correlations of Monoterpenes hidrocarbon enantiomers in *Pinus sylvestris* and *Picea abies*. J. Chem. Ecol. 26: 1701-1720.
7. M. Kleinhentz. H. Jacte., and, P. Menassieu 1999. Terpene Attractant Candidates of *Dioryctria Sylvestrella* in Maritime Pine (*Pinus pinaster*) Oleoresin, Needles, Liber, and Headspace Samples. J. Chem. Ecol. 25: 2741-2756.
8. R.G. Latta., V. B. Linhart., L. Lundquist., M.A. Shyder ,2000. Patters of monoterpene variation within individual trees in Ponderosa Pine. J. Chem. Ecol. 26: 1341-1355.
9. T. Kreis, "Speckle Metrology," in *Holographic Interferometry* (Akademie Verlag Inc., New York, NY, 1996), Chapter 4, pp. 125-149.

ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO DEL FLOROGURCITOL EN MEDIO ACUOSO EN DEPENDENCIA CON EL pH MEDIANTE EL EMPLEO DE ESPECTROSCOPIA UV-VIS

Jessica Karina Carrera Padilla, Uziel de Jesús Ramos Fentanez, Juan Saulo González González, Margarita Bernabé Pineda.

Cuerpo Académico de Farmacobiología. Universidad de la Cañada. karinajessica096@gmail.com, tlaneci21@unca.edu.mx

RESUMEN

La búsqueda de mejorar propiedades fisicoquímicas de los principios activos en la industria farmacéutica con el fin de poder proponer nuevas formulaciones que permitan otras vías de administración a lo ya establecido, ha permitido que el área de la química supramolecular realice propuestas de síntesis de cocristales farmacéuticos, por ejemplo, se han realizado síntesis de cocristales de lidocaína con formadores polifenólicos. Varios de los polifenoles empleados como formadores no se tienen reportes de algunas de sus propiedades fisicoquímicas en solución por ello es importante conocer las características individuales de los formadores que permitan apoyar a las condiciones experimentales en la formación de los cocristales. En este trabajo se presenta el comportamiento del florogurcitol en medio acuoso en dependencia con el valor de pH mediante el empleo de espectroscopia UV-VIS. Los espectros del florogurcitol presentan cuatro máximos de absorción en 226 nm, 253 nm, 279 nm y 351 nm los cuales se ven afectados por el valor de pH en el sistema, de manera gráfica se tiene un equilibrio de acidez en un pH de 9.3 el cual es consistente con el valor de pKa obtenido por el programa ACD/Labs I-Lab 2.0 el cual reporta un valor teórico de 9.0 ± 0.4 para un primer equilibrio de acidez, en medio básico es florogurcitol es inestable (presenta procesos de oxidación). Para la obtención de los valores de las dos constantes acidez restantes del florogurcitol es necesario la realización de un estudio más fino.

INTRODUCCIÓN

Durante muchos años, los químicos han sintetizado moléculas e investigado sus propiedades químicas y físicas. Más allá de la Química Molecular, basada en el enlace covalente, se encuentra el campo de la Química Supramolecular que fue introducido por primera vez por J. M. Lehn en 1978, y que se define como “la química más allá de la molécula”. Las supramoléculas, las cuales, son moléculas complejas pero que resultan ser una entidad altamente organizada y que se mantiene unidas por fuerzas intermoleculares, principalmente puentes de hidrógeno (Lehn, 2007). En términos de las interacciones no covalentes, la química supramolecular trata de la unión de un anfitrión y una molécula invitada (Steed y Atwood, 2009). La química supramolecular se basa en el reconocimiento molecular, proceso en el cual una molécula receptora (anfitrión) se une a un sustrato (huésped) para formar una supramolécula (Nangia y Desiraju, 1998).

Aunque se considera a la química supramolecular como una ciencia relativamente joven (1960-1970), actualmente se ha convertido en un campo interdisciplinario que abarca aspectos físicos, biológicos y químicos. Con el rápido desarrollo en este campo, han sido reportados diversos sistemas complejos como: sensores moleculares, nanoestructuras autoensambladas y funcionales; y sistemas hospedador-huésped (Wang y Yang, 2013). Uno de los aportes más importantes que se ha generado como parte de las aplicaciones que ofrece esta ciencia es la síntesis de cristales moleculares, los cuales son estudiados por la ingeniería cristalina (Basiuk et al., 2000). Las estructuras cristalinas pueden quedar definidas como una red de interacciones intermoleculares. También se denomina a los cocristales como supramoléculas por excelencia. (Desiraju, 2013). La ingeniería cristalina o de cristales tiene como fin la comprensión de las interacciones intermoleculares para su manipulación en el diseño de estructuras sólidas, controlando la estructura y propiedades específicas (McMahon et al., 2005). Para ello aplica los conocimientos de la química supramolecular en estado sólido. La clave para el diseño y análisis de estructuras cristalinas son los sintones supramoleculares, los cuales de acuerdo a Desiraju en 2007 son unidades estructurales dentro de las supramoléculas que se pueden formar/ensamblar por la implicación de interacciones intermoleculares. La búsqueda constante de nuevas formas farmacéuticas hace uso de la ingeniería de cristales para producir nuevos productos farmacéuticos cristalinos (Braga et al., 2013), lo cual, es

de utilidad para el diseño y síntesis de cocrystalos, de igual forma que para los cocrystalos farmacéuticos.

Los cocrystalos farmacéuticos son materiales cristalinos formados por un Ingrediente Farmacéutico Activo (IFA) y uno o varios formadores de cocrystal que se encuentran en la misma celda cristalina. Estos compuestos siguen los principios de la química supramolecular, ya que estos se construyen por medio de interacciones no covalentes, principalmente por puentes de hidrógeno. Los formadores que generalmente se utilizan son alcoholes, amidas y ácidos carboxílicos (Peterson et al., 2006). La aplicación de los cocrystalos farmacéuticos se ve reflejada en la mejora de las propiedades fisicoquímicas y farmacotécnicas de los fármacos.

De la Cruz, Porfirio. (2017) obtuvo cocrystalos farmacéuticos de lidocaína con el uso de formadores polifenólicos, comportándose la lidocaína como el huésped y el polifenol como molécula anfitriona. La lidocaína es una molécula que posee en su estructura química los grupos funcionales amino terciario, carbonilo y amida que pueden formar interacciones no covalentes que lleven a la formación de cocrystalos farmacéuticos.

En el caso de los formadores polifenólicos, éstos poseen grupos hidroxilos que pueden formar puentes de hidrógeno con el grupo carbonilo de la lidocaína, dando lugar a los cocrystalos farmacéuticos. Los polifenoles utilizados son: catecol, orcinol, resorcinol, floriglucinol, pirogalol, 2metilresorcinol, 2,7 dihidroxinaftaleno y 4,6 diterbutilresorcinol.

Los formadores de cocrystal propuestos son estables a condiciones normales de almacenamiento y uso, no tienen productos de descomposición peligrosos, no existen evidencias (al menos contundentes) de carcinogenicidad, mutagenicidad, toxicidad o genotoxicidad reportada de acuerdo a sus respectivas fichas de seguridad y algunas monografías de la IARC (Agencia Internacional para la investigación del Cáncer), por sus siglas en inglés. Éstos compuestos también han sido reportados para su uso en el área farmacéutica y cosmética (p. 3).

TEORÍA

Cuando se estudian nuevos sistemas para la determinación del número de especies presentes a las condiciones experimentales propuestas, la elección de un método que permita realizar el cálculo dependerá de la propiedad experimental que se elija para el sistema en estudio. El tratamiento de datos experimentales se puede realizar de manera gráfica o empleando métodos computacionales que han tomado auge en los últimos años.

Métodos Gráficos para determinación del número de especies en solución.

Abordan nuevos sistemas, en los cuales no se cuente con información previa puede llevar a la elección de varios caminos, sin embargo, es preciso conocer la propiedad experimental que se tendrá que ocupar ya que de ello dependerá como realizar un análisis de datos que nos ayuden a entender las especies que se formen en las condiciones experimentales propuestas. Por ejemplo, si el sistema presenta color, entonces podemos seguir su comportamiento empleando la espectroscopia UV-vis y para realizar el análisis de datos al aplicar un método gráfico se debe considerar un número total de especies absorbente que sea en un número menor o igual a tres y que obedezcan la ley de Beer.

Los procedimientos gráficos han sido desarrollados para dos tipos de condiciones:

1) Procedimiento gráfico cuando no está restringido el lugar sobre la estequiometría de las soluciones examinadas.

2) Procedimiento gráfico para restricciones estequiométricas.

La elección de uno o del otro dependerá del sistema en estudio

En este trabajo para conocer el número de especies involucradas se utiliza un método gráfico consistente en obtener curvas de absorbancia como función de pH del sistema. Si solamente se tiene un equilibrio ácido-base en el sistema con un valor de K_A , se obtendrá una curva sigmoide típica con un punto de inflexión (H.H. Tonnesen, 2002); en caso contrario el comportamiento observado será más complicado.

PARTE EXPERIMENTAL

Soluciones de Florogurcitol [p.m. 126] 1×10^{-2} , intervalo de trabajo 220-400 nm, velocidad de barrido 480 nm/s. Las variaciones de pH se realizaron con una solución NaOH 0.1 M.

RESULTADOS

En este trabajo se presenta el comportamiento del florogurcitol en medio acuoso en dependencia con el valor de pH mediante el empleo de espectroscopia UV-VIS (Fig. 1).

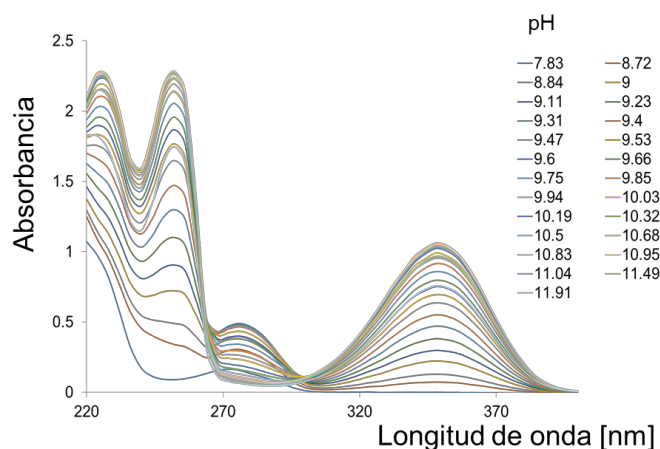


Figura 1. Espectros de absorción del sistema Florogurcitol-H₂O en función del valor de pH.

Como se puede apreciar en la figura 1, los espectros del florogurcitol presentan cuatro máximos de absorción en 226 nm, 253 nm, 279 nm y 351 nm. Conforme el medio aumenta su pH, los máximos de absorción situados en 226, 253 y 351 nm tienen un comportamiento hiperacrómico, mientras que la señal en 279 nm presenta una disminución en su absorbancia. Este comportamiento está relacionado con la desprotonación de los grupos OH. Para encontrar la relación del cambio espectral en correspondencia con el número de H⁺ ácidos presentes en la estructura, se realiza una determinación gráfica.

En la figura 2 se muestra el comportamiento de los máximos de absorción en relación al pH

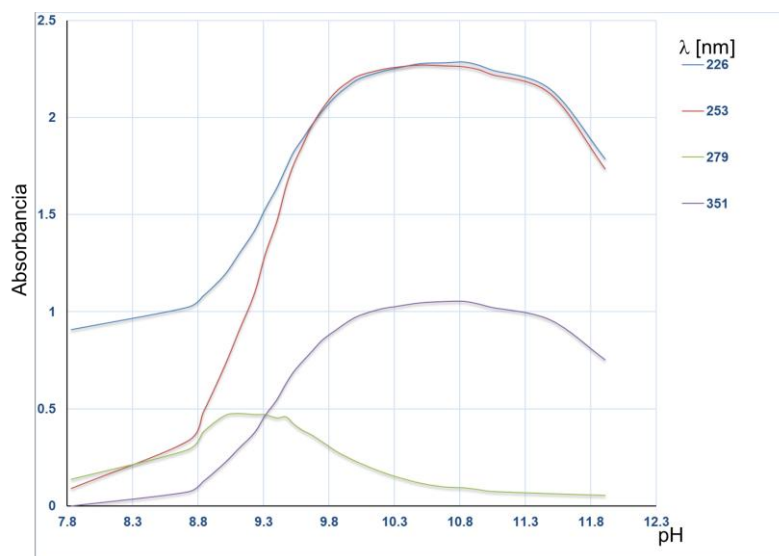


Figura 2. Espectros de absorbancia en función del pH a diferentes longitudes de onda [nm].

De manera gráfica se puede observar con mayor claridad dos interceptos correspondientes a 8.3 y 9.3, sin embargo, el valor en 9.3 tiene mayor definidad.

El resultado experimental se compara con el obtenido por el programa computacional ACD/Labs, el cual reporta los siguientes resultados (Fig. 3):

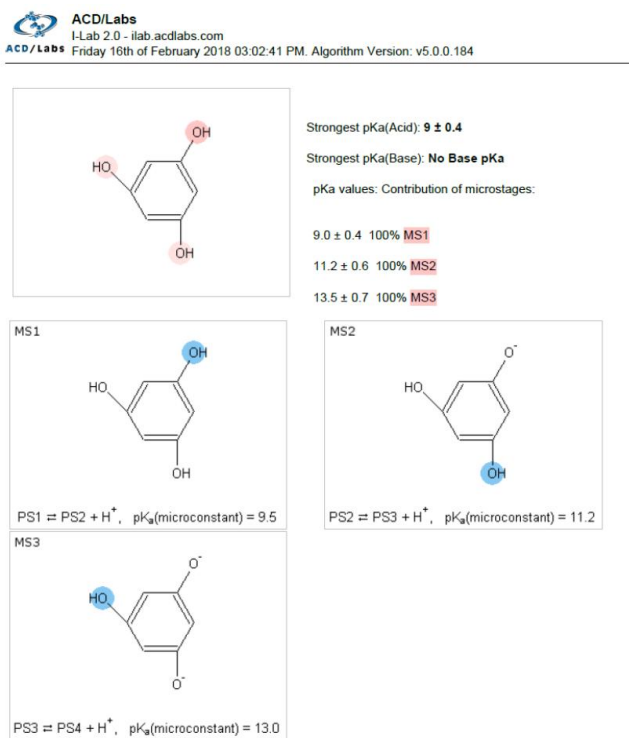


Figura 3. Resultados obtenidos para los valores de pKa para el floroglucitol mediante el programa ACD/Labs I-Lab 2.0.

El valor obtenido experimentalmente es congruente con el primer equilibrio de desprotonación del floroglucitol, el cual es consistente con el valor de pKa obtenido por el programa ACD/Labs I-Lab 2.0 el cual reporta un valor teórico de 9.0 ± 0.4 para un primer equilibrio de acidez.

CONCLUSIONES

El comportamiento del floroglucitol en medio acuoso está en dependencia con el valor de pH. El empleo de los espectros de absorción en un sistema nuevo, son de gran ayuda para el cálculo de constante. En este trabajo se pudo calcular un equilibrio de acidez para el floroglucitol $H_3F \rightarrow H_2F + H^+$ en medio acuoso, con un valor de pKa de 9.3, este valor obtenido es respaldado con el valor teórico del programa ACD/Labs I-Lab 2.0 el cual reporta un valor de 9.0 ± 0.4 para el primer equilibrio de acidez. Para calcular los siguientes equilibrios es necesario la realización de un estudio más fino.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ashwini, Nangia, & R., Desiraju Gautam. (1999). "Supramolecular Synthons and Pattern Recognition". Topics in Current Chemistry, 198, 57-95.
2. Basiuk, E., Lara, J. G., & Basiuk, V. (2000). "Química supramolecular de los compuestos obtenidos por la combinación entre los macrociclos poliazas y los ácidos aromáticos". Revista de la Sociedad Química de México, 44(4), 289-293.
3. Braga, Dario, Chelazzi, Laura -, Grepioni, Fabrizia, Dichiarante, Elena, Chierotti, Michele R., & Gobetto, Roberto. (2013). "Molecular salts of anesthetic lidocaine with dicarboxylic acids: solidstate properties and a combined structural and spectroscopic study". Crystal Growth & Design, 1-28.
4. De la Cruz, Porfirio. (2017). "Síntesis y caracterización de cocrisales farmacéuticos de lidocaína con formadores polifenólicos". Tesis de Ingeniería. Universidad de la Cañada.

5. Desiraju, Gautam R. (2014). "Chemical crystallography and crystal engineering". CrossMark, 1, 380-38.
6. H.H. Tonnesen, M. Masson, T.Loftsson. *Int. J. Pharm.* (2002).
7. Lehn, J. M. (2007). "From supramolecular chemistry towards constitutional dynamic chemistry and adaptive chemistry". *The Royal Society of Chemistry*, 36, 151-160.
8. McMahon, Jennifer A., Bis, Joanna A., Vishweshwar, Peddy, Shattock, Tanise R., McLaughlin, Olga L., & Zaworotko, Michael J. (2005). "Crystal engineering of the composition of pharmaceutical phases". 31. "Primary amide supramolecular heterosynthons and their role in the design of pharmaceutical co-crystals". *Z. Kristallogr*, 340–350.
9. Peterson M., MB, H., MJ, Z., & O, A. (2006). "Expanding the scope of crystal form evaluation in pharmaceutical science". *Journal of pharmaceutical sciences*, 9(3), 317326.
10. Steed, J., Atwood, J. (2009). "Supramolecular chemistry". United Kingdom: John Wiley & Sons, Ltd.
11. Wang, Kai, & Yang, Ying-Wei. (2013). "Supramolecular chemistry". *Annu. Rep. Prog. Chem., Sect. B: Org. Chem*, 109, 67-87.

CICLO DE VIDA Y CRIANZA DE LA MARIPOSA BLANCA, *LEPTOPHOBIA ARIPA* BOISDUF (LEPIDOPTERA: PIERIDAE)

Ariadna Jocelyn Cruz Díaz, Jetro Adrián Luna Barreda, María Socorro Orozco Almanza y Roberto Ramos González.

Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. Email: shariadi@hotmail.com

RESUMEN

Los huertos urbanos con manejo ecológico, representan una herramienta clave para atraer polinizadores y mantener su conservación. En la actualidad, el uso de insumos químicos en la agricultura convencional es un peligro inminente para las poblaciones de mariposas y abejas, debido a que provocan su envenenamiento y en algunos casos hasta su extinción. La conservación de las mariposas representa una alternativa para mejorar los ingresos de los agricultores por medio del manejo y aprovechamiento de los recursos naturales. El objetivo de este trabajo fue conocer el ciclo de vida de la mariposa blanca y generar un protocolo para su crianza bajo condiciones de cautiverio. Ciclo de vida: se marcaron plantas hospederas en el huerto (mastuerzo) y se identificaron los organismos en el momento de la ovoposición, se cuantificaron los huevecillos y el tiempo medio de eclosión, recolectando la oruga del primer instar para observar el desarrollo completo. Se observó y registró el tiempo medio de cada etapa de desarrollo, así como el momento de la emergencia del imago. Durante el ciclo de vida se registró la temperatura y humedad relativa ambiental. Para la crianza se recolectaron las orugas correspondientes a la quinta etapa de desarrollo larvario en el huerto y se colocaron 20 larvas / tina de plástico de 5L con tapa, teniendo un total de tres tinas. Para su alimentación se colocaron hojas de mastuerzo dentro de la tina (1 por oruga), diariamente se eliminó el excremento y cada tercer día se le cambio el alimento, hasta la emergencia del imago el cual se liberó en un mariposario. Se calcularon los costos de producción. La mariposa blanca presenta un gran potencial para su crianza en cautiverio sin requerir de instalaciones costosas ni cuidados especiales, obteniendo de un 80-90% de adultos, en cada crianza.

INTRODUCCIÓN

Los huertos urbanos con manejo ecológico, son de gran importancia debido a la diversidad de fauna asociada que generan, además de las interacciones que se presentan dentro de él y por ser una herramienta esencial para atraer a los polinizadores y generar su conservación. Uno de los polinizadores más importantes son las mariposas que al encontrar un ambiente altamente diverso como los huertos, ubican un sitio de refugio y alimento. Las flores polinizadas por las mariposas diurnas presentan corolas largas y bases estrechas que conducen al nectario; las mariposas que las visitan tienen una probóscide larga entre 10 y 20 mm de longitud, e incluyen especies de varios grupos de Nymphalidae, Papilionidae y Pieridae (Tobar, 2001).

Científicos han estimado que existen alrededor de 200.000 especies de mariposas y polillas en todo el planeta, de las cuales únicamente se han llegado a identificar a 120.000 especies, por lo que todavía falta por identificar y describir aproximadamente 80.000 especies (AWACACHI, 2006). En México, algunas estimaciones recientes sugieren que deben existir no menos de 25, 000 especies de mariposas, aproximadamente 10% del total mundial. Sin embargo, existen cuatro procesos que están poniendo en peligro las poblaciones de lepidópteros: la destrucción del hábitat, la explotación comercial, el desplazamiento por especies introducidas y los envenenamientos causados por el uso de pesticidas. (Romeu, 2000). Este último proceso se debe a que muchas de las fases larvianas del ciclo de las mariposas se consideran plagas, tal es el caso de las larvas de la familia de los píeridos ya que se alimentan de los cultivos de brasicáceas (Jaramillo y Muñis, 2001). En la actualidad, el uso de insumos químicos en la agricultura convencional es un peligro inminente para las poblaciones de mariposas y abejas, debido a que provocan su envenenamiento y en algunos casos hasta su extinción (Romeu, 2000)

Por ello, una forma de contribuir a la conservación de estos organismos es diseñar espacios verdes, como, los huertos ecológicos, donde no se utilizan insumos químicos, y en donde las mariposas pueden encontrar un refugio y alimento hasta hallar un hábitat óptimo para asegurar la supervivencia de su progenie, por otro lado estas mariposas pueden ser una alternativa adicional del huerto, para aumentar los ingresos económicos de los productores, por medio de la crianza controlada y la

comercialización de esta fauna asociada.

Las mariposas se han considerado como un recurso natural no convencional, ya que se ha promovido su crianza para posteriormente venderlas en eventos sociales, para la elaboración de colecciones con fines académicos y exposiciones en museos, para elaborar artesanías, entre otros usos, evitando así la sobreexplotación y, contribuyendo a su conservación, ya que la crianza se puede aprovechar como un recurso rentable, puesto que contribuye al desarrollo turístico, cultural y económico de algunas comunidades rurales, asimismo evitando la depredación y transformación de sus hábitats que son muy importantes dentro de los ecosistemas (Gómez, 2006).

La mariposa blanca (*Leptophobia aripa*) pertenece a la familia de piéridos, considerando su etapa de larva como plaga de hortalizas como las coles, brócolis, y coliflores (Cuevas, 2015). Por ello, el objetivo de este trabajo fue conocer su ciclo de vida, su mayor actividad en la época de otoño, generar su protocolo de crianza bajo condiciones de cautiverio e identificar las plantas hospederas y nectaríferas dentro de un huerto urbano.

TEORIA

Los huertos urbanos son espacios que le dan valor a las zonas públicas de nuestra ciudad y que se encuentran abandonadas o degradadas y mejoran la calidad estética de zonas vecinales comunes, balcones y terrazas al introducir biodiversidad. El cultivo urbano y ecológico enseña a los ciudadanos el valor y el sabor de los productos cercanos y de temporada, fomentando y recuperando hábitos alimenticios. El huerto urbano debe seguir los principios de la agricultura ecológica, su cultivo será respetuoso con la vida y el entorno, evitando la contaminación del ecosistema.

Estos principios agroecológicos son (Sabanés, 2011):

- a) Seleccionar especies hortícolas de variedad local, mejor adaptadas al clima y suelo de la zona y, por consiguiente, más resistentes y vigorosas.
- b) Respeta los ciclos naturales de los cultivos, obteniéndose diferentes productos hortícolas en función de la temporada.
- c) Excluye el uso de productos químicos artificiales, como herbicidas, fitosanitarios o fertilizantes de efectos perjudiciales para el suelo y el ecosistema del huerto.
- d) Emplea fertilizantes orgánicos naturales, como compost, humus de lombriz o estiércol.
- e) Fomenta la biodiversidad.
- f) Previene y controla las plagas, hongos y enfermedades por métodos ecológicos.
- g) Aplica asociaciones y rotaciones de cultivos.

Los lepidópteros, del griego lepis=escama y pteron=ala, reciben ese nombre debido a que poseen las alas cubiertas de pequeñas escamas. Se conocen comúnmente como <<mariposas>>, las cuales han sido divididas en diurnas (Ropalóceros) y nocturnas (Heteróceros). La diferencia entre uno y otro grupo se basan en: la configuración de las antenas, ya que suelen terminar en una <<Maza>> en las diurnas y tienen muy variado aspecto en las nocturnas, la venación alar, el cuerpo (que resulta mucho más robusto, peludo y escamoso entre las nocturnas), la forma de colocar las alas al posarse (que es vertical sobre el cuerpo en los ropalóceros y horizontalmente en los heteróceros), la presencia de órganos timpánicos en las mariposas nocturnas, etc. (Sabariego, 1995).

La mariposa sufre, en su ciclo de vida, lo que se denomina metamorfosis completa, al igual que ocurre con otros insectos de su clase como pueden ser escarabajos o abejas, este proceso son una serie de cambios internos y externos que hace que el animal pase de huevo a adulto por las siguientes fases:

Huevo (fase embrionaria). primer embrión puesto por una mariposa adulta.

Larva u oruga (fase de crecimiento). Nace del huevo y va creciendo rápidamente. A medida que crecen las orugas, mudan su exoesqueleto. El exoesqueleto es la estructura de soporte y protección exterior de su cuerpo. Este proceso se llama la muda o ecdisis y se desencadena principalmente por las hormonas. La oruga se forma una nueva cutícula debajo de la cutícula vieja. La oruga pasa por cinco etapas (antes de convertirse en pupa) y a cada etapa se le llama instar (García, 1998) (Fig.1).

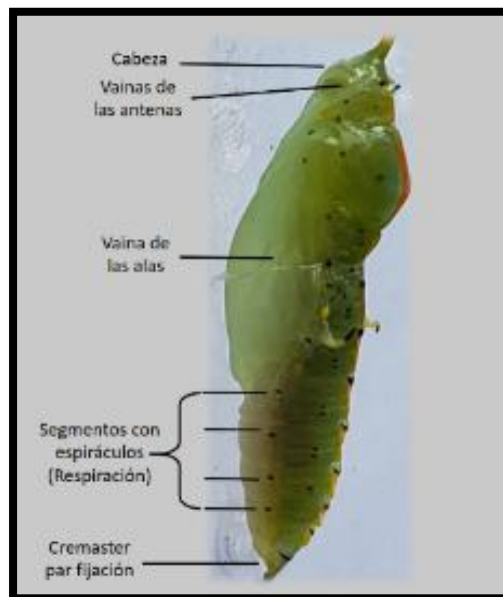
Figura 1. Esquema típico de las diferentes partes de una oruga.



Pupa o crisálida (fase de transformación). De estas dos formas se puede denominar a esta estructura orgánica, que realiza la oruga dentro de un capullo sedoso o en el interior de una capa de quitina mediante el cual, en la absoluta quietud, cambia totalmente, tanto externa como internamente, hasta transformarse en adulto. (García, 1998) (Fig 2.)

Imago, adulto o mariposa (fase de reproducción). Al salir del capullo, la nueva mariposa, que ya tiene las alas, pero plegadas, permanece quieta mientras su cuerpo se va endureciendo y a través de las venas de sus alas va inyectando su sangre, denominada hemolinfa, logrando que éstas se desplieguen y la mariposa pueda volar. (García, 1998).

Figura 2. Esquema típico de las diferentes partes que una pupa o crisálida tiene.



Este ciclo que siempre es igual para todas las mariposas, varía en su duración con la especie y con la generación dentro de una misma especie y de un mismo año (García, 1998).

PARTE EXPERIMENTAL

El estudio se realizó en el Centro de Capacitación en Agricultura Urbana Ecológica, Vivero Chimalxochipan de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza campo 2 (UNAM), ubicado en la

Ciudad de México. El estudio se realizó durante el período de otoño de 2017. Se llevó a cabo un estudio de abundancia en el cual se contabilizaron los huevos que ovipositaban las mariposas en una parcela de cultivo de mastuerzo de 6 m². Una vez contabilizados los huevos, se marcó la hoja con rafia y se registró el número de huevos por mes, así como el número de larvas.

Ciclo de vida. Para establecer el ciclo de vida de la mariposa blanca bajo las condiciones del huerto, se recolectaron las larvas desde el segundo instar, colocando 5 larvas en un bote de plástico de un litro con tapa y cinco hojas de mastuerzo, posteriormente al pasar al tercer instar se colocaba una oruga por vaso y dos hojas de mastuerzo. Cada tercer día se limpiaron los botes, retirando el excremento de las orugas para evitar enfermedades, además se cambiaron las hojas de mastuerzo, colocando el mismo número según el caso. Posteriormente se registró el cambio de instar, la diferencia de longitud y la duración de cada una de sus etapas hasta la obtención del imago.

Identificación y propagación de plantas hospederas y nectaríferas. La propagación de mastuerzo (*Tropaeolum majus*) se realizó de forma asexual dentro de un microtúnel y en una parcela de 6 m², abonada con bocashi (3 kg/m²). Los esquejes presentaron una altura de 15 cm con 4 hojas y con por lo menos dos nudos. El microtúnel permanecía cerrado para evitar la ovoposición de la mariposa blanca.

RESULTADOS

La mayor actividad de la mariposa blanca (*Leptophobia aripa*) en el huerto, se presentó en el mes de noviembre, donde la cantidad de huevos registrados fue mayor (Fig.3), sin embargo, el no. de larvas fue independiente del número de huevos, ya que el mayor número de orugas se recolectaron en el mes de octubre, de aquí que la cantidad de imagos fue alta en noviembre y con ello la mayor ovoposición en noviembre (Fig.3)

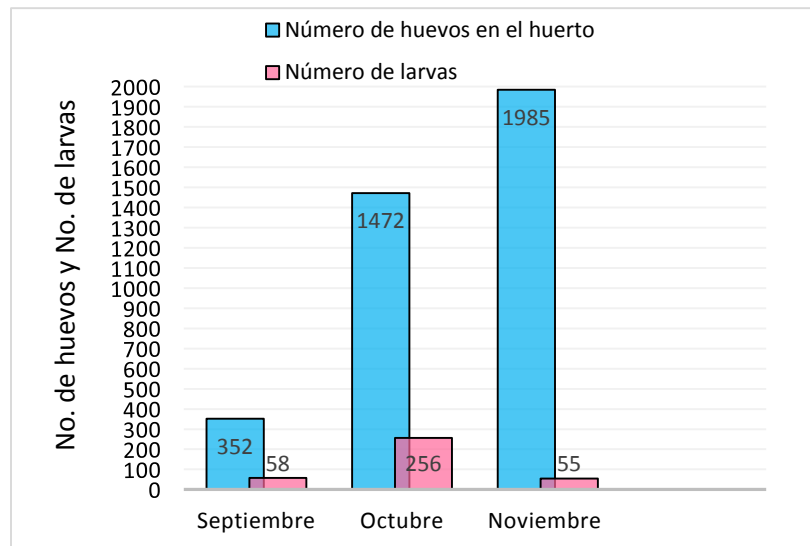


Figura 3. Actividad de la mariposa blanca en los meses de otoño dentro del huerto.

CICLO DE VIDA. El ciclo de vida de la mariposa blanca desde huevo hasta la emergencia del imago se registró de 34 a 41 días aproximadamente. (Figura 4). Siendo semejante según la literatura (Toledo, 2011).

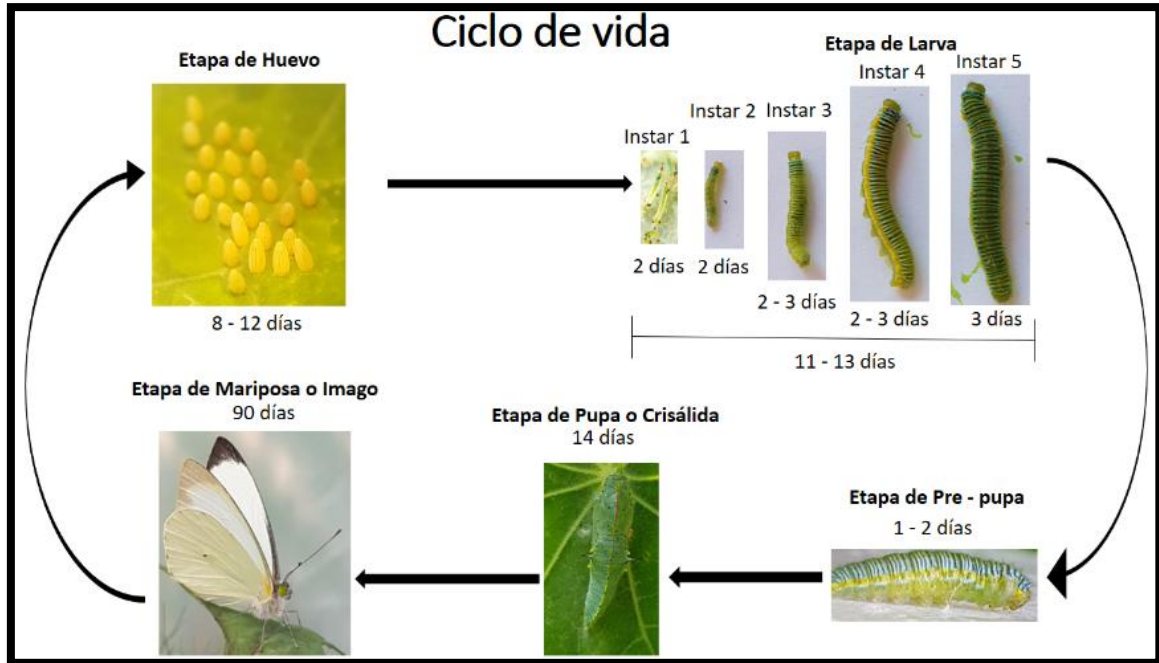


Figura. 4 Duración del ciclo de vida de la mariposa blanca (*Leptophobia aripa*).

Después de la ovoposición de la mariposa blanca, las orugas emergen entre los 8 a los 12 días después, presentándose durante esta etapa larval, cinco instares. En el primer instar, las orugas miden de 2 a 5 mm, teniendo una duración de 2 días, las cuales presentan un color amarillo (Fig. 5).

Figura. 5 Larva en primer instar de *Leptophobia aripa*.



En el segundo instar, la larva presenta una longitud de 6 a 10 mm con una duración de dos días aproximadamente, teniendo una coloración amarilla con ligeros tonos verdes (Fig. 6a). Para el tercer instar, tiene una longitud de 11 a 15 mm con una duración de 2 a 3 días aproximadamente, presentando todavía colores amarillos y verdes, en algunas partes del cuerpo de la larva con líneas negras de forma horizontal (Fig. 6b). El cuarto instar tiene una duración de 2 a 3 días, una longitud de 16 a 20 mm y una morfología más diferenciada; el cuerpo presenta dos franjas

amarillas a los costados, segmentos de color negro con blanco y visos ligeramente amarillos sobre el abdomen (Fig. 6c). Finalmente, el quinto instar tiene una duración de 3 días, una longitud de 20 a 25 mm y una morfología mas definida como se observa en la (Fig. 6d) presentando en su cuerpo dos franjas amarillas a los costados seguida de un tono ligeramente azul, segmentos de color negro con azul y una capa ligeramente verde sobre la parte central del abdomen y el torax.

Para la etapa de prepupa la larva deja de alimentarse y se coloca en la parte superior del vaso de plastico de 1L, comienza a disminuir su tamaño y a observarse el cremaster, teniendo una duración de 1 a 2 días (Fig. 6e). La crisálida o pupa tiene una duración de 14 días aproximadamente, con un tamaño menor al observado en el quinto instar, presenta un color verde con dos alargaciones negras en forma de pico en la parte media dorsal. Mientras se va acercado a la fecha de la emergencia del imago, la pupa se va tornando color crema y se observa con mayor claridad la vaina de las alas (Fig. 6f).

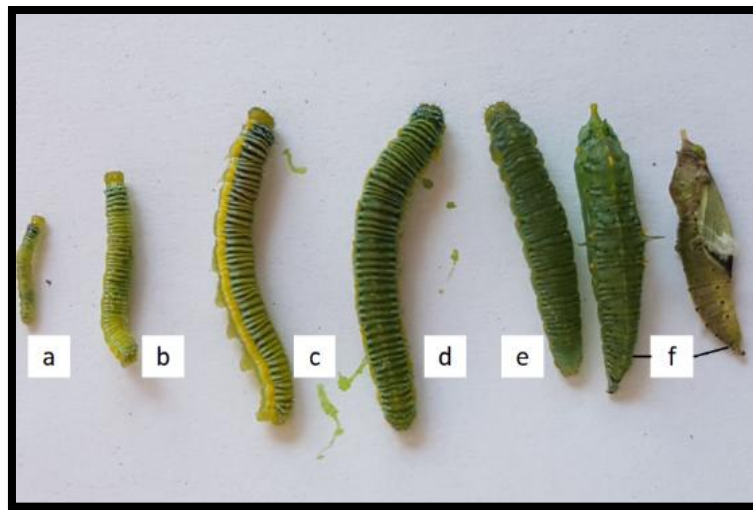


Figura. 6: Inestares de la larva de *Leptophobia aripa*. a) segundo instar b)tercer instar c)cuarto instar d)quinto instar e)prepupa y f)pupa o crisalida.

El adulto emerge de los 34 días a los 41 días, el cual presenta color blanco en sus alas anteriores con la orilla negra en forma triangular, las alas posteriores son totalmente blancas en forma de óvalo, ojos compuestos color verde, una probóscide y antenas largas y delgadas, tórax negro y parte del abdomen color blanco (Fig. 7)



Figura 7. Morfología de la mariposa *Leptophobia aripa*

PROPAGACIÓN DE PLANTAS. La planta hospedera para la ovoposición y alimentación de las orugas de la mariposa blanca presente en el huerto, fue el mastuerzo, como lo reporta la literatura (Vries, 1987). La propagación asexual por esquejes con hojas presentó un 100% de enraizamiento

(Fig. 8). La parcela se cubrió totalmente con las plantas de mastuerzo en 40 días después del trasplante de 96 esquejes, presentan do una alta tasa de prendimiento, supervivencia y colonización del mastuerzo. Una vez enraizadas las plantas, se fueron trasplantando a diferentes partes del huerto para favorecer la presencia de la mariposa en el huerto y su control en la ovoposición para así evitar la depredación de cultivos de interés como la col, los rábanos y la arúgula.



Figura 8. Supervivencia de la propagación asexual y sexual con mastuerzo (*Tropeolus majus*).

Plantas nectaríferas y hospederas.

Mediante la observación en el huerto urbano, se reportan tres plantas hospederas (*tropeolus majus*, *brassica oleraceae* var. *seballica* y *eruca sativa*) y diez plantas nectaríferas (*Zinnia* sp, *Lantana* cámara, *Tanacetum parthenium*, *Citrus sinensis*, *Lavandula officinalis*, *Chrysanthemum* spp, *Sonchus* sp, *Cuphea hyssopifolia*, *Cuphea hyssopifolia*, *Alyssum* sp y *Foeniculum vulgare*) (Fig.9)



Figura 9. Mariposa blanca (*Leptophobia aripa*) posando en plantas hospederas y alimenticias dentro del huerto.

Tropeolus Majus; 2. Chrysanthemum Spp 3. Alyssum Sp. 4. Lantana Cámara 5. Foeniculum Vulgare 6. Lavandula Officinalis 7 Brassica Oleraceae Var. Seballica 8. Citrus Sinensis 9. Zinnia Spp

Protocolo de crianza.

La mariposa blanca es una de las mariposas más dóciles y acostumbradas a convivir con el ser humano, el protocolo de crianza es muy sencillo dadas las características de adaptación al manejo de ésta mariposa, las diferentes etapas para su crianza se presentan en la Fig. 10.

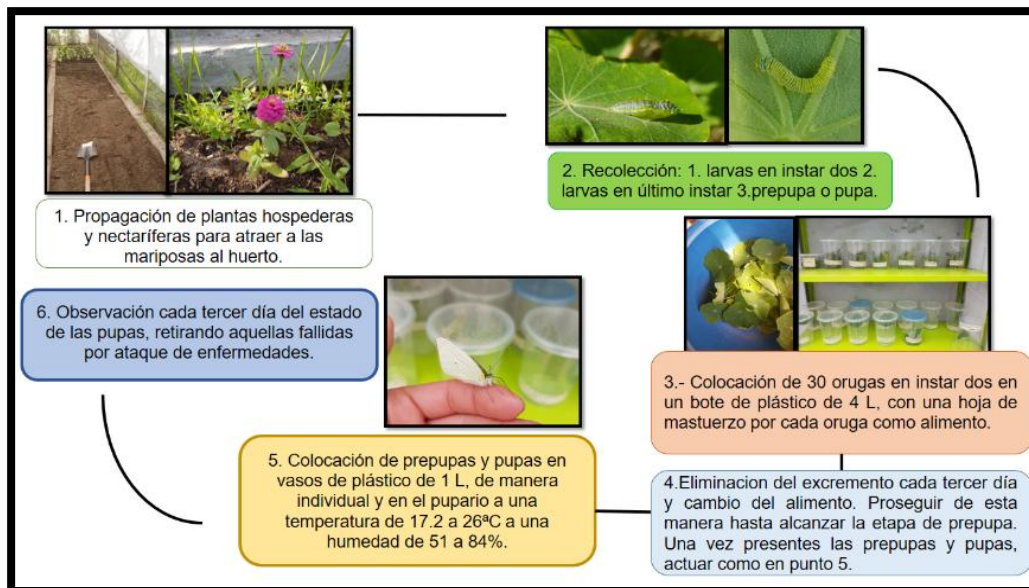


Figura 10. Diagrama del protocolo de crianza de la mariposa blanca (*Leptophobia aripa*)

Costos de producción (120 mariposas)

Una mariposa blanca a lo largo de su etapa de larva consume aproximadamente una planta de mastuerzo, por lo que se necesitan 120 plantas para la crianza (Cuadro 2). Por otro lado, el riego por planta es de 50 mL de agua durante 2 meses, por lo que se requiere de 1,440 litros.

El agua es uno de los insumos más caros, el costo de producción de la propagación del mastuerzo (*Tropeolus majus*) para las 120 plantas es de \$1,492.00 por lo que cada planta tiene un costo de \$12.50 utilizando agua potable para el riego, pero si el productor cuenta con agua de lluvia el precio total para las 120 plantas, bajaría con un costo de \$1,060 y el costo de cada planta sería de \$8.83. Aquel productor que no conste de captador de agua de lluvia, requerirá comprar el agua, para ello el costo será de \$432.00 (Cuadro 2). La propagación de las plantas, así como el abonado y el riego toma aproximadamente 20 hrs de trabajo, teniendo un costo total de \$250.00 por mano de obra (Cuadro 2).

Cuadro 2. Costos de producción de la propagación de mastuerzo (*Tropeolus majus*).

Insumo	Cantidad	Precio Unitario \$ M.N.	Precio total \$ M.N.
Plantas hospederas	30 plantas de mastuerzo	20.00	\$ 600.00
Abono bocashi	30 k para 10 m ²	\$7.00 kg	\$210.00
Agua de riego	1440 L	\$6.00 20L	\$ 432.00
Mano de obra	20 h	\$100.00 8h	\$ 250.00
Total (costo de 120 plantas)			\$1492.00
Total (costo unitario por planta)			\$12.50

Para mantener en cautiverio las larvas de la mariposa blanca, se requiere de 4 botes de plástico con una capacidad de 4L. Si las larvas son recolectadas desde el primer instar, se requieren de 9 días con un trabajo de 20 minutos por bote, obteniendo un total de 12 hrs. Mientras que la etapa de pupa, requiere de 6 días para ser monitoreada, y para cada día se requiere de 40 minutos. Generando un costo de \$200.00 más \$50.00 del empaquetamiento de las mariposas para la venta (Cuadro 3).

Cuadro 3. Costos de producción para la crianza de la mariposa blanca (*Leptophobia aripa*)

Insumo	Cantidad	Precio Unitario \$ M.N.	Precio total \$ M.N.
Botes	4 de 4L	\$20.00	\$ 80.00
Malla de mosquitero	1m	\$30.00	\$30.00
Cajas de cartón 30X30 cm	6	\$6.00	\$ 36.00
Mano de obra	20 h	\$100.00 8h	\$ 250.00
Total (costo de 120 mariposas)			\$1,888.00
Total (costo unitario por mariposa)			\$15.73

El costo de producción de la crianza de la mariposa blanca con agua potable tiene un costo de \$15.73 (Cuadro 4), mientras que el costo de una mariposa utilizando agua de lluvia en la propagación de mastuerzo es de \$12.13 (Cuadro 4).

Cuadro 4. Costo de producción por planta de mastuerzo (*Tropeolus majus*) y por mariposa (*Leptophobia aripa*).

Costo por planta utilizando agua de lluvia. \$ M.N.	Costo por planta utilizando potable \$ M.N.	Costo por mariposa utilizando agua de la lluvia en la propagación de mastuerzo. \$ M.N.	Costo por mariposa utilizando agua potable en la propagación de mastuerzo. \$ M.N.
\$8.83	\$12.50	\$12.13	\$15.73

CONCLUSIONES

El huerto urbano altamente diversificado, representa un centro para la conservación de la mariposa blanca, donde, ésta encuentra los requerimientos necesarios para cubrir su ciclo de vida.

El ciclo de vida de la mariposa blanca en un huerto urbano, es similar al reportado para ecosistemas naturales (34 a 41 días).

La propagación de la planta hospedera fue exitosa por medio de propagación asexual y con un costo de producción bajo (\$ 8.83).

El plan de manejo de la mariposa blanca es sencillo gracias a sus características de adaptación a las condiciones urbanas y manejo en cautiverio, su supervivencia durante la crianza es alta (80%) y su costo de producción unitario es bajo (\$ 12.13 y \$15.73).

El ciclo de crianza desde recolecta de orugas en instar dos hasta la obtención del imago es de 24 a 27 días, lo cual es similar a su ciclo de vida bajo condiciones naturales.

El huerto orgánico urbano representa un hábitat óptimo para el aprovechamiento de la mariposa blanca, y una alternativa económica adicional para el productor de hortalizas orgánicas.

BIBLIOGRAFÍA

- García y J. A. López, "Guía de mariposas diurnas de la Zona Norte del Parque del Sureste". Madrid: Henargraf (1998).
- Centro De Manejo De Vida Silvestre Awacachi, "Plan De Manejo" (Ecuador 2006) Pp. 15.
- D.L. Tobar, J. Orlando y M. Gonzalo, "Las cargas polínicas en las mariposas (Lepidoptera: Ropalocera) de la parte alta de la cuenca del río Roble-Quindío-Colombia". (Caldasia, 2001), p.p. 549-557.
- E. Romeu, "Mariposas mexicanas: los insectos más hermosos". CONABIO Biodiversitas Vol. 28, 2007, pp. 10.
- E. Sabariego, J. Martínez y A. Aguirre, "Mariposas diurnas de la provincia de Almería". (Escobar Impresores. S.L. Departamento de Ecología y Medio Ambiente Almería, 1995).
- F.J. Olivares, J.M. Barea, F. J. Pérez, A. Tinaut Y I. Henares, "Ropalóceros De Sierra Nevada. Introducción Al Grupo Y Sistemática. En Las Mariposas Diurnas De Sierra Nevada" Vol. 25, 2011.
- Sabanés, "Curso: Huerto Urbano Ecológico. (Madrid: Sma. SI, 2011).
- M. A. Jaramillo Y R. B. Muñiz, "Insectos Plaga De Brócoli Y Coliflor Y Sus Enemigos Naturales En La Región Del Bajío, México". Vol. 2, 2001 Inifap, Pp. 26.
- M.I. Cuevas, M.P. Rodríguez y C. Romero, "Infusiones botánicas para el control de *Leptophobia aripa elodia Boisduval* (Lepidoptera: pieridae) en brócoli (*Brassica oleracea var. italica*) bajo condiciones de laboratorio". Boletín de la Sociedad mexicana de entomología, Especial Vol. 1, 2015, pp. 71.
- R. Gómez. "Plan de manejo propuesto para la cría de mariposas promisorias como alternativa productiva para comunidades indígenas de la Amazonia colombiana". Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa, Vol. 38, 2006, pp. 451- 459.
- P.J. Vries, "The butterflyes of Costa Rica and their natural history". (Princeton University Press, New Jersey, 1987), 327 pp.
- Y. Toledo, "Metamorfosis artificial". (XXII Congreso CUAM- AC. Morelos, 2011).

USO DE MATERIALES DE CARBONO COMO MATERIAL DE ELECTRODO EN SISTEMAS DE DETECCIÓN DE METALES EN AGUA.

Svetlana Kashina¹, Marco Balleza², Araceli Jacobo Azuara¹, María del Rosario Galindo-González³

¹Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas, ²Universidad de Guanajuato, División de Ciencias e Ingenierías, ³Catedra CONACYT adscrita a Universidad de Guanajuato.

RESUMEN

Los materiales de carbono micro- y nanoestructurados han tomado gran importancia debido a que sus propiedades y aplicaciones difieren a las que presenta el mismo material en bulk. Un área en la que han tenido un gran impacto es en la detección de diferentes especies químicas por su gran área superficial y alta conductividad. La forma bulk del grafito presenta una alta resistencia, pero al disminuir su tamaño, se mejora su conducción. Por lo anterior nuestro grupo de trabajo se interesó en sintetizar nuevos materiales a partir de grafito mediante la síntesis electroquímica para aplicarlos en dispositivos de detección de metales. Los materiales fueron sintetizados a partir de las barras de grafito mediante la descomposición electroquímica. La temperatura de síntesis fue variada: 25, 50 y 80 °C. Los materiales obtenidos se evaluaron mediante técnicas electroquímicas en un sistema de tres electrodos. Las tintas preparadas de cada material fueron depositadas en la superficie del electrodo de carbón vítreo inmerso en H₂SO₄ (0.1 M). Los resultados muestran que dispositivos armados con los tres materiales son capaces de detectar Cu en solución acuosa.

INTRODUCCIÓN

Los materiales en escala micro y nanométrica poseen propiedades únicas y distintas a los que poseen las formas macrométricas, por lo tanto, pueden tener diversas aplicaciones. Estas posibilidades han despertado creciente interés en su investigación.

Uno de los materiales que han tomado gran importancia en la ingeniería de los materiales es el carbono, debido a sus diversas formas alotrópicas que tienen y pueden tener un gran campo de aplicaciones. Entre ellos se pueden matizar los usos de formas nanométricas de carbono de dispositivos electrónicos y como sensores moleculares y biológicos. Una de las formas de carbono que ha despertado el particular interés en actualidad es grafito. Este se puede ser utilizado como fuente para obtener las formas nanométricas como nanotubos y grafeno [1].

La estructura cristalina de diferentes formas de carbono es responsable de sus diferentes propiedades. En grafito y grafeno las capas están conformados por los átomos en la configuración sp². Esta estructura proporciona a los materiales buena capacidad de conducción eléctrica y almacenamiento de carga. Además, grafeno posee una gran área superficial [2].

Una de las áreas donde las formas nanométricas de carbono han tenido un gran impacto es la detección de especies químicas, debido a sus propiedades fisicoquímicas únicas que permiten desarrollar sensores con alta sensibilidad, selectividad y reproducibilidad. Particularmente, diferentes formas nanométricas del carbono han sido utilizados en dispositivos para la detección electroquímica de metales pesados en agua. Dentro de este grupo, grafeno puro y modificado con otras especies químicas ha demostrado la capacidad de detección de los iones de Pb(II), Hg(II) y Cd(II) con límites de detección de 0.4 nM, 30 nM y 0.05 mM, respectivamente [3]. La principal desventaja de uso de grafeno es la relativa dificultad de su producción.

Por lo anterior nuestro grupo de trabajo se interesó en sintetizar nuevos materiales de carbono, mediante síntesis electroquímica. Además, los materiales fueron probados como materiales de electrodo de trabajo en sistemas de detección electroquímica de Cu en agua.

PARTE EXPERIMENTAL

Síntesis.

Para sintetizar los materiales de carbono se utilizó el método de descomposición electroquímica descrito en [4] con modificaciones. De manera general, dos barras de grafito convencionales fueron sometidas a la solución 1M de KNO₃ (Figura 1). El sistema fue conectado a la fuente de poder (Steren, México) y la corriente constante de 5 V fue aplicado. Al aplicar la corriente eléctrica, el ánodo empezó a descomponerse, formando un precipitado negro. El precipitado fue lavado y secado. La

temperatura de la síntesis fue variada: 25, 50 y 80 °C Los nombres de materiales fueron asignados como KNO₃-X, donde X es la temperatura de la síntesis.

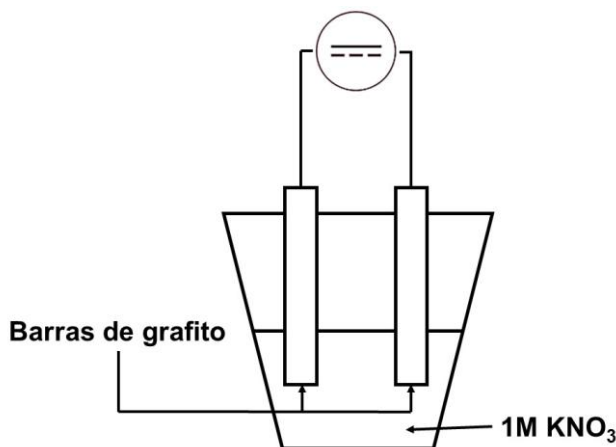


Figura 1. Sistema de la síntesis electroquímica.

Caracterización.

Los materiales obtenidos fueron caracterizados mediante la microscopía electrónica de barrido. Las áreas superficiales y tamaño de poros fueron determinados mediante fisisorción de nitrógeno.

Detección electroquímica de Cu.

El sistema convencional de tres electrodos fue utilizado para la detección de Cu en solución acuosa. Electrodo de carbón vítreo fue modificado por separado con las tintas preparadas con los materiales obtenidos (material carbonáceo, isopropanol, nafion). Electrodo saturado de Calomel y alambre del platino fueron utilizados como electrodo de referencia y contraelectrodo, respectivamente. Las voltamperometrías cíclicas y cronoamperometrías fueron realizadas con el potencióstato SP-150 (Bio-logic, Francia) en el medio de 1M de H₂SO₄.

Las voltamperogramas cíclicas fueron obtenidas en el rango de -0.8 a 0 V con velocidad del barrido 50 mV/s. Los cronoamperogramas fueron obtenidos a -0.2 V añadiendo 5 alícuotas de 10 mM de CuSO₄.

RESULTADOS

Caracterización de materiales.

Los materiales obtenidos fueron caracterizados mediante microscopía electrónica de barrido. Los imágenes mostraron que todos materiales estaban formados por partículas de tamaño micrométrico y formas variadas.

Áreas superficiales de los materiales no variaron a gran medida y fueron alrededor de 4 m²/g y tamaño de poro de 6 nm, aproximadamente.

Detección electroquímica de Cu.

En la primera etapa, voltamperogramas cíclicas fueron obtenidos para todos materiales en ácido y en presencia de 10 mM CuSO₄. En la Figura 2 se presenta voltamperograma obtenida utilizando material KNO₃-25 como electrodo de trabajo en presencia de Cu²⁺. Se puede observar que el pico de la reducción de Cu²⁺ se encuentra en -0.18 V, aproximadamente. Por lo tanto, este potencial se utilizó posteriormente para obtener cronoamperogramas.

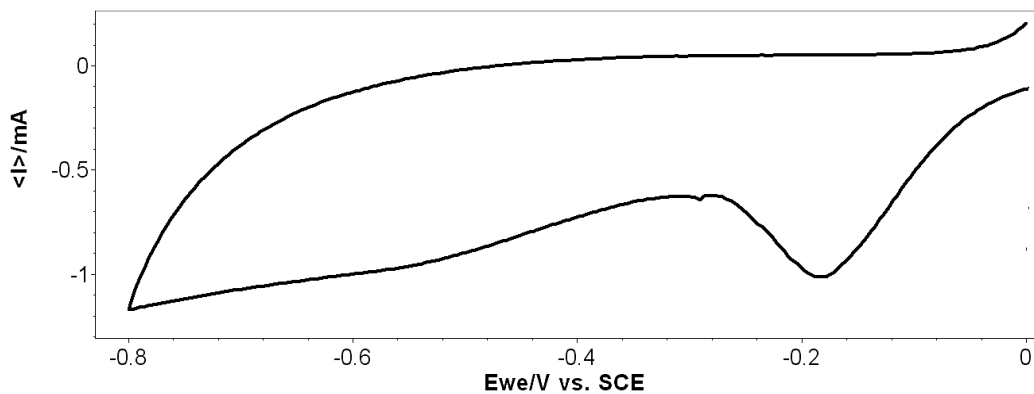


Figura 2. Voltamperograma obtenida para material KNO3-25 en presencia de 10 mM de CuSO_4 .

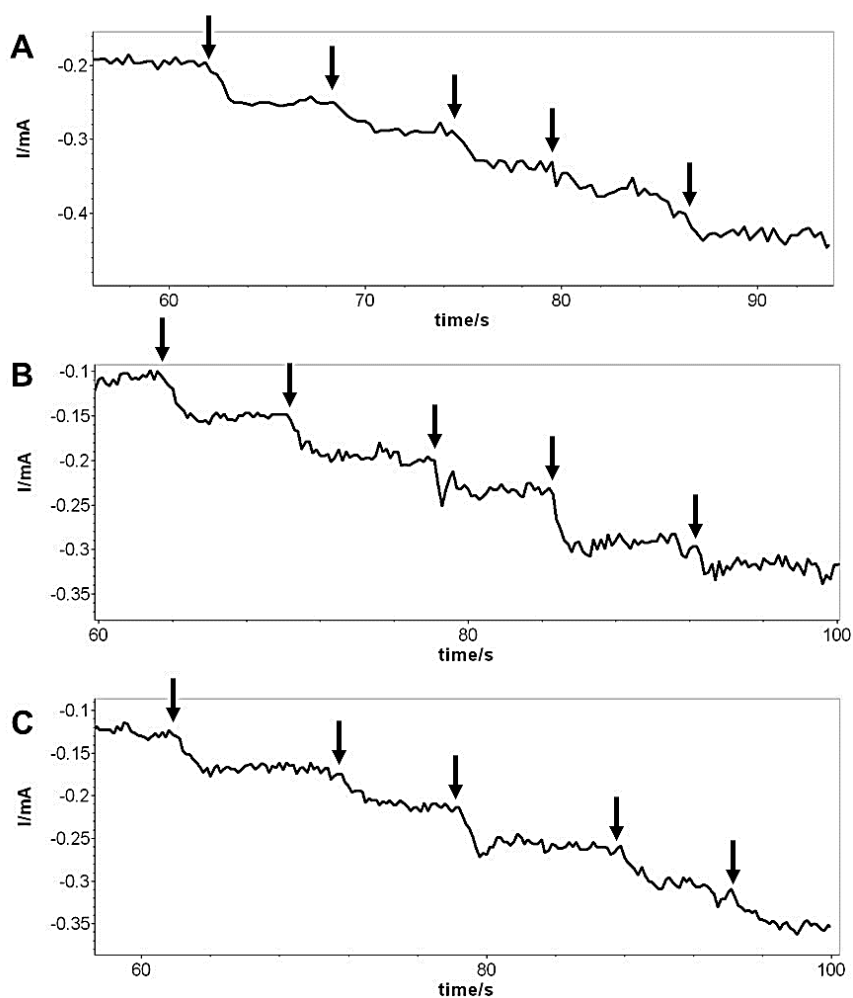


Figura 3. Cronoamperogramas obtenidos a -0.18 V para A) KNO3-25; B) KNO3-50; C) KNO3-80. Flechas indican adición de 0.5 mL de 10 mM CuSO_4 .

En la figura 3 se muestran los cronoamperogramas obtenidos para los 3 materiales. Se puede observar que las adiciones de Cu^{2+} provocan cambios en la corriente eléctrica significativos. Además,

al aumentar la concentración de Cu, se aumenta el ruido. Probablemente, este efecto se puede atribuir a la acumulación de Cu en la superficie del electrodo como resultado de electrodeposición. A partir de los cronoamperogramas se hicieron los gráficos de calibración (Figura 4). Se puede observar que los puntos ajustan a una línea para los tres materiales con R^2 de 0.990, aproximadamente. Se necesita repetir las pruebas para determinar el rango de la linealidad y límites de detección para establecer cuál de los materiales es la mejor opción como material de electrodo de trabajo.

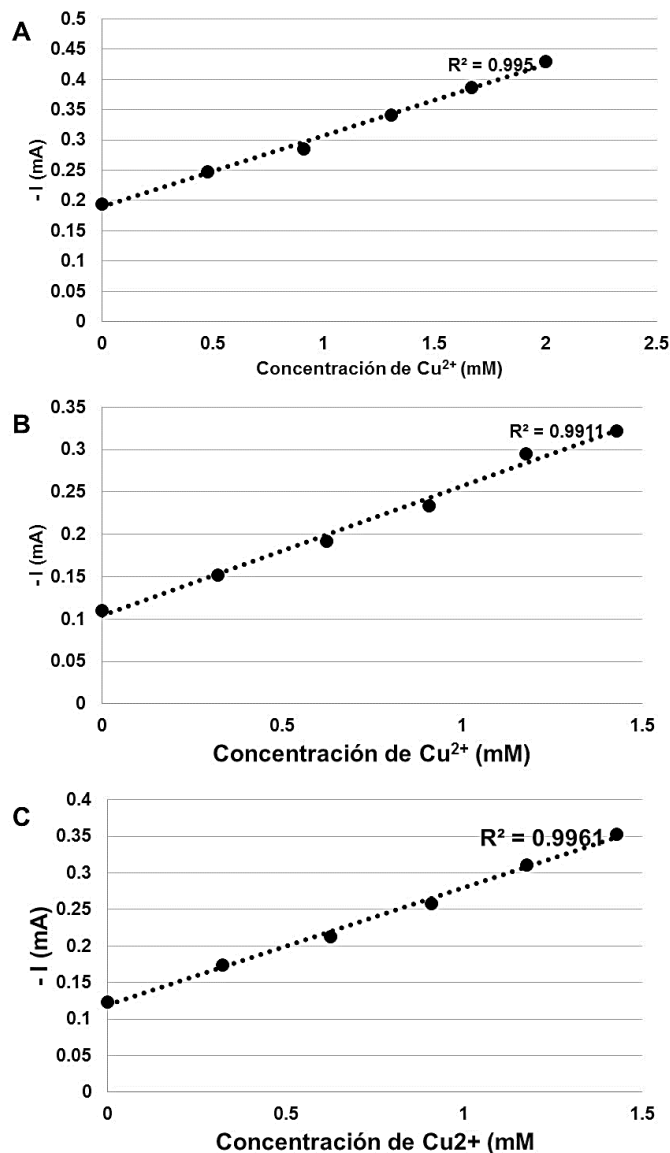


Figura 4. Curvas de calibración obtenidas para Cu^{2+} utilizando material: A) KNO3-25; B) KNO3-50; C) KNO3-80

CONCLUSIONES

Los resultados muestran que dispositivos armados con los tres materiales son capaces de detectar Cu^{2+} en solución acuosa. Se necesitan las pruebas adicionales para determinar el rango de linealidad, sensibilidad y selectividad de la prueba.

BIBLIOGRAFÍA

1. C. Buzea and I. Pacheco, "Nanomaterials and their Classification," in *EMR/ESR/EPR Spectroscopy for Characterization of Nanomaterials*: Springer, 2017, pp. 3-45.
2. Y. Gogotsi and V. Presser, *Carbon Nanomaterials*. Crc Press, 2013.
3. S. K. Pandey, P. Singh, J. Singh, S. Sachan, S. Srivastava, And S. K. Singh, "Nanocarbon-Based Electrochemical Detection Of Heavy Metals," (In English), *Electroanalysis, Review* Vol. 28, No. 10, Pp. 2472-2488, Oct 2016.
4. J. Wang, H. S. Yin, X. M. Meng, J. Y. Zhu, And S. Y. Ai, "Preparation Of The Mixture Of Graphene Nanosheets And Carbon Nanospheres With High Adsorptivity By Electrolyzing Graphite Rod And Its Application in Hydroquinone Detection," *Journal Of Electroanalytical Chemistry*, Vol. 662, No. 2, Pp. 317-321, Nov 2011.

EFFECTOS NEUROTÓXICOS EN RATAS EXPUESTAS A METILMERCURIO (MEHG)

Brenda Asaneth Montoya Coronado², Citlalli Selene Ruiz García², Ana Ruth Nava¹ Jorge Bluhm Gutiérrez³, Santiago Valle Rodríguez³, Felipe de Jesús Escalona Alcázar³, Josefina Huerta García¹.

¹Universidad Autónoma de Zacatecas, Laboratorio de Biología Ambiental y Molecular ²Unidad Académica de Ciencias Biológicas UAZ, ³Unidad Académica de Ciencias de la Tierra UAZ.
jhuga@msn.com

RESUMEN

La exposición humana a los diferentes estados de oxidación del mercurio: Mercurio elemental (Hg^0), Cloruro de Mercurio (HgCl_2) y Metilmercurio (MeHg) se han correlacionado a numerosas patologías. Los efectos causados por la intoxicación crónica a MeHg señalan principalmente daño neurológico¹. Esta investigación tuvo como objetivo principal evaluar el daño a nivel Sistema Nervioso Central (SNC) en un modelo murino; ratas hembras *Long evans*, de 4-5 semanas de edad y peso corporal de 200 ± 250 g provenientes del bioterio de la UACB-UAZ, los animales fueron divididos en dos grupos: Grupo expuesto a MeHg con una dosis de $0.1\text{mg/L}^{1,2}$ administrada por vía oral (agua de beber), durante 3 meses consecutivos y el Grupo Control al cual no se le administró el tóxico. A los 30 días posteriores de la última exposición se procedió al sacrificio mediante dislocación cervical, para extraer el SNC (cerebro) y fijarlo en formaldehído amortiguado al 5% (pH 6-7). El estudio se realizaron diferentes tipos de análisis: análisis macroscópico donde se evaluó comparativamente el tamaño, peso y estructura cerebral de ambos grupos; estudio histopatológico en el cual se utilizaron dos tinciones Hematoxilina-Eosina y la tinción especial Luxol fast blue, para valorar la posible desmielinización axonal y por último Inmunohistoquímica (IHQ), para evaluar la expresión de la proteína GFAP (proteína ácida fibrilar glial), la cual es un marcador para la identificación de células nerviosas (astrocitos). Los resultados a nivel macroscópico no mostraron alteraciones morfológicas en los grupos de estudio, sin embargo, a nivel histológico por medio de la tinción hematoxilina-eosina se observó una disminución en el número de células nerviosas (neuronas y oligodendrocitos), axones muy delgados e irregulares y neuronas hipertróficas, La tinción especial de Luxol fast blue mostró una severa desmielinización axonal y una disminución en número y calidad de los astrocitos y finalmente en el estudio de IHQ se aprecia una activación de la expresión de GFAP. Los resultados obtenidos muestran evidencia que el MeHg está provocando una serie de alteraciones en diferentes tipos celulares del SNC (neuronas, astrocitos y células de Purkinje), que pueden provocar patologías en el SNC especialmente neurodegenerativas.

INTRODUCCIÓN

El MeHg es una de las formas más tóxicas del Mercurio (Hg), siendo uno de los principales órganos afectados el Sistema Nervioso Central (SNC), los ambientes de metilación más importantes para la formación de MeHg son los medios acuáticos y una vez en este estado de oxidación es fácilmente introducido a través de la cadena trófica acuática, bioacumulándose y biomagnificándose en ella y de aquí pasa a la cadena alimenticia humana, convirtiéndose así, el consumo de pescado y mariscos como una de las formas de exposición más importantes del MeHg hacia el hombre. La dosis mínima con la que se observan daños tóxicos aún no está bien establecida, sin embargo, existen algunos estudios que proponen alteraciones importantes a la salud humana aún con dosis catalogadas como Límites Máximos Permisibles (LMP). Esto convierte a MeHg en una potente neurotoxina que puede provocar graves daños a la salud pública³.

TEORÍA

El mercurio es un elemento que no sólo muestra alta afinidad a los grupos sulfhidrilo sino también a grupos fosforilo, carboxilo, amida y amina con los cuales compite. Las proteínas (incluyendo las enzimas) presentan en su estructura varios de los grupos funcionales anteriormente mencionados, por lo tanto, son un blanco directo de mercurio. La toxicidad está en parte relacionada con el estado oxidativo en la que el mercurio esté disponible: elemental, orgánica o inorgánica. El MeHg es uno de los estados de oxidación más conocido a partir de la tragedia ocurrida en Minamata por intoxicación masiva derivada de la ingesta de pescado contaminado; es la forma predominante del mercurio (orgánico), generalmente, el MeHg presente en el medio ambiente ha sido transformado por

microorganismos a partir de Hg^0 liberado en el aire o descargado al medio acuático por fuentes naturales y/o antropogénicas. El consumo de pescado es la principal vía de exposición a $MeHg^4$, la mayoría de los compuestos orgánicos de mercurio se absorben por ingestión o inhalación, en general son liposolubles y alrededor del 90-100% se absorbe mediante el tracto gastrointestinal, aparecen en la fracción lipídica de la sangre y en el tejido cerebral⁵. Los compuestos orgánicos de mercurio son generalmente más tóxicos para el SNC, aunque los riñones y el sistema inmunológico pueden verse afectados⁶. El $MeHg$ es uno de los compuestos que más riesgo representa para el ser humano, siendo un neurotóxico importante⁷⁻¹⁰, presenta alta capacidad para asociarse a moléculas que presentan grupos tiol, como el aminoácido cisteína, formando el complejo $Me-Hg-S-Cys$, mimetizándose con la metionina para atravesar barrera hematoencefálica y placentaria por la vía de transporte para aminoácidos neutros. El daño en SNC por $MeHg$ en los adultos se caracteriza por deterioro a zonas específicas del cerebro: córtex visual con pérdida de neuronas, destrucción de células granulosas del cerebelo y degeneración axonal⁸. La afinidad de $MeHg$ por los grupos tiol es uno de los mecanismos de acción que lo convierten en un compuesto muy peligroso. Los astrocitos cumplen un rol importante en la excitotoxicidad inducida por $MeHg$, este compuesto se acumula preferentemente en los astrocitos (células gliales más abundantes) considerados como células de sostén del SNC; provocando así una alteración en su estructura y función con efectos perjudiciales para el SNC¹¹. La expresión de GFAP se induce ante daño cerebral y la degeneración del SNC, es un marcador clásico para la identificación inmunohistoquímica de los astrocitos¹². La amplia toxicidad de $MeHg$ se ha correlacionado con apoptosis y necrosis¹³, generación de estrés oxidativo¹⁴, alteraciones tempranas en el desarrollo¹⁵, autoinmunidad¹⁶, señalización de calcio¹⁷ e inhibición de crecimiento o desensamblaje de los microtúbulos^{18,19}. Estos antecedentes muestran la necesidad de continuar investigando sobre los mecanismos de acción a nivel celular y molecular del $MeHg$ por los severos daños que ocasiona incluso a dosis mínimas y de manera crónica.

PARTE EXPERIMENTAL

Se utilizaron 11 ratas hembra *Long evans*, de 4-5 semanas de edad y peso corporal de 200 ± 250 g provenientes del Bioterio de la Unidad Académica de Ciencias Biológicas UAZ., las ratas se clasificaron en dos grupos: Grupo expuesto a $MeHg$ con una dosis de 0.1mg/L ^{2,1} administrada por vía oral (agua de beber) y el Grupo Control al cual no se le administró el tóxico. La exposición se llevó a cabo durante tres meses consecutivos. Después de 30 días del último periodo de exposición, se procedió a realizar la eutanasia de los animales mediante dislocación cervical, posteriormente se llevó a cabo la disección del órgano de interés (cerebro) de cada individuo y se procedió a evaluar sus características morfológicas (tamaño, forma y peso) Inmediatamente después se fueron colocando en formaldehído amortiguado al 5% (pH 6-7) para la conservación y fijación del tejido, después de fijados los tejidos se embebieron en parafina. Los cortes de los bloques de parafina para las tinciones de Hematoxilina-Eosina y una tinción especial de Azul Luxol fueron de 3-4 μm de grosor, ambas técnicas se hicieron bajo el protocolo del Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de Estados Unidos (1994)²⁰. A partir de cada muestra embebida en parafina, se obtuvo un corte adicional de 1-2 μm de grosor para la evaluar la expresión de GFAP por medio de la técnica de IHQ, utilizando anticuerpo monoclonal de ratón para GFAP clona 6F2 y un anticuerpo policlonal de conejo, que fueron reveladas con diaminobencidina.

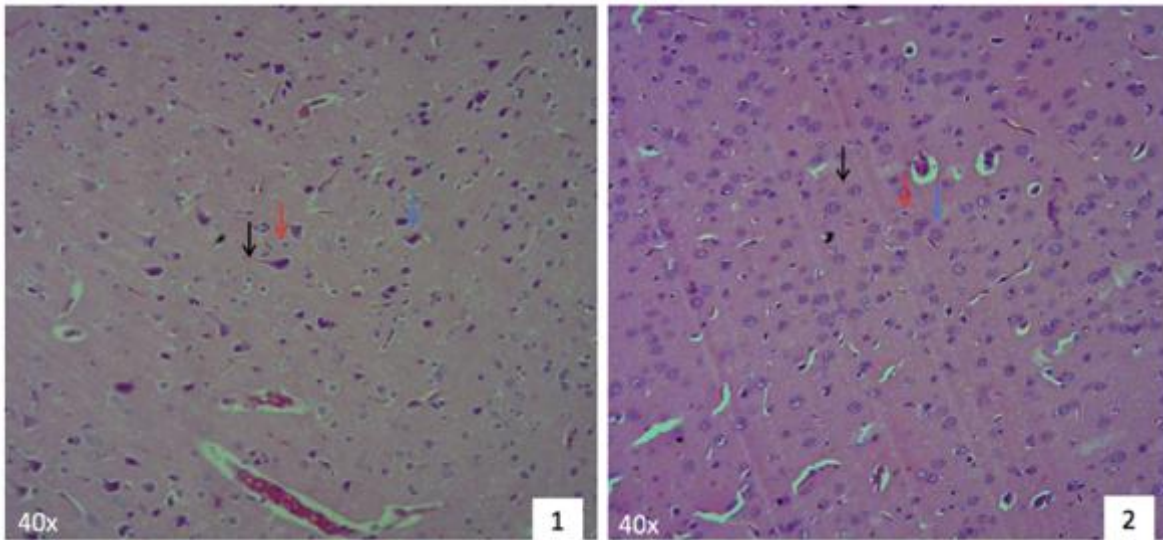
RESULTADOS

Figura I. Detalle de tejido de SNC de rata/control (1) y rata/tratada MeHg (2) con tinción hematoxilina-eosina: (1) axones de neuronas bien definidos (flecha negra), oligodendrocitos (flecha roja) y núcleo bien definido (flecha azul) y (2) neuronas sin axones (flecha negra), oligodendrocitos cercanos a las neuronas (flecha roja) y cromatina dispersa en núcleo (flecha azul)

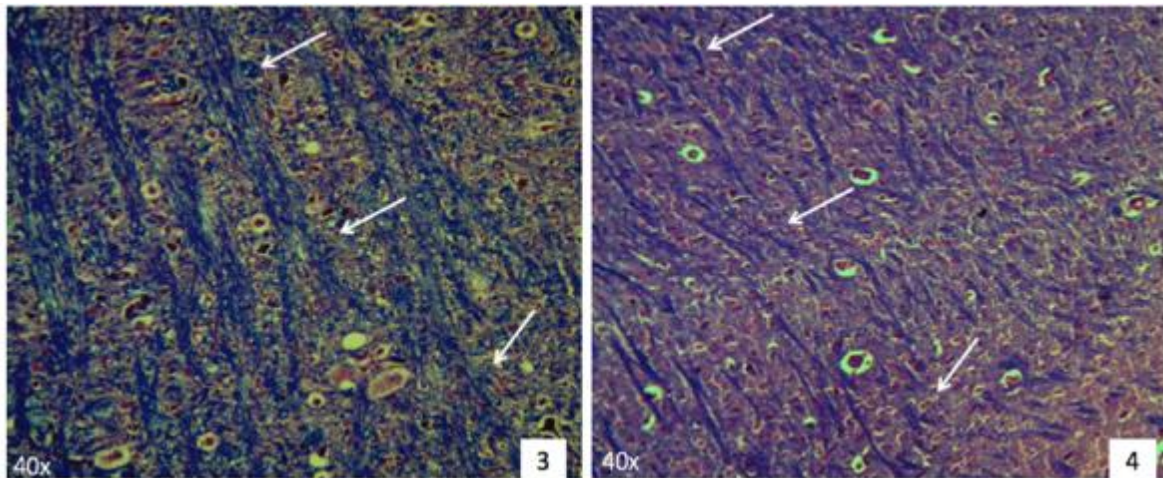


Figura II. Detalle de tejido de SNC de rata/control (3) y rata/ expuesta a MeHg (4) con tinción especial Luxol fast blue (tiñe vainas de mielina en azul): (3) Axones amplios bien definidos y continuos (flecha blanca) y (4) Axones muy delgados y fragmentados, no hay continuidad, lo que evidencia una notable desmielinización de axones.

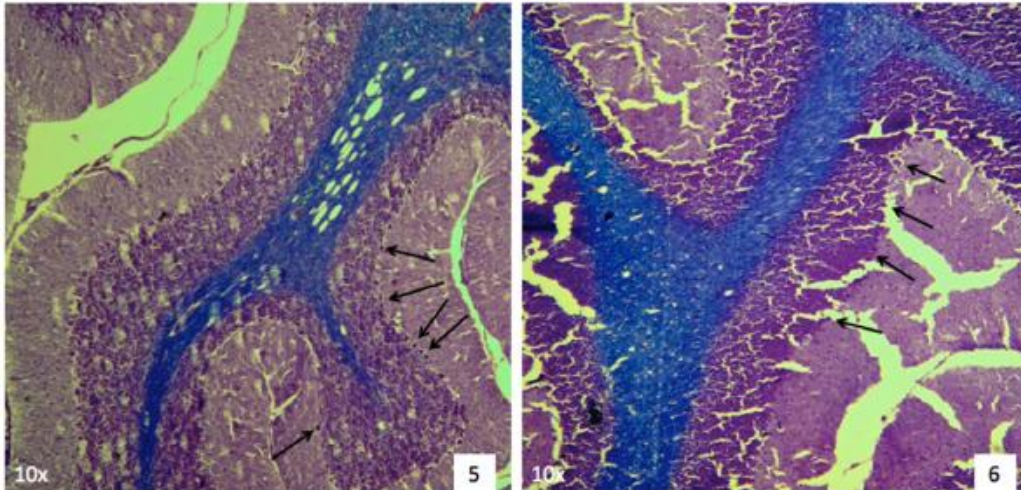


Figura III. Detalle de corteza del cerebelo teñido con Luxol fast blue (5) rata/ control y (6) rata/expuestas a MeHg: (5) Las células de Purkinje se muestran alineadas a la capa granulosa del cerebelo y siguiendo un patrón continuo (flechas negras) y (6) Se muestra una disminución considerable de las células de Purkinje, algunas se mantienen muy distantes unas de otras, además la capa granulosa parece estar en estado necrótico (flechas negras).

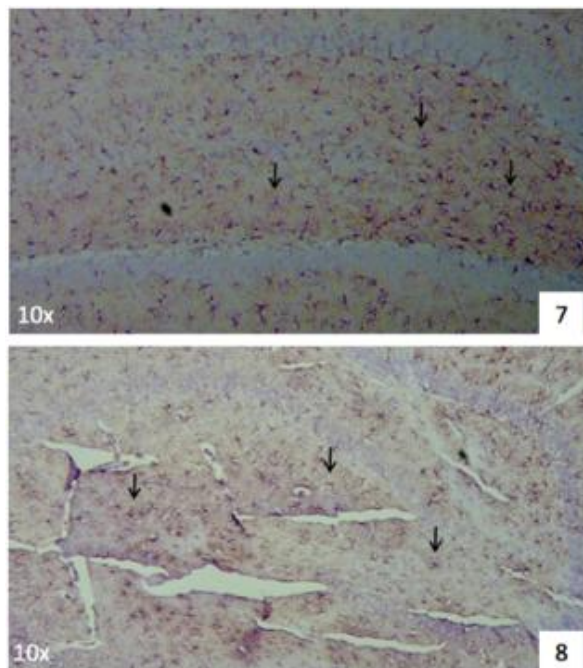


Figura IV. Detalle de Hipocampo por Inmunohistoquímica /GFAP: (7) rata/control (7) y (8) rata/expuesta a MeHg: (7) se observa un gran número de astrocitos (flechas negras), los cuales se encuentran bien definidos y bastante ramificados y (8) Se muestra cambios patológicos en los astrocitos, una clara disminución y con una ramificación casi nula y con procesos de degeneración.

CONCLUSIONES

Estos datos demuestran que el MeHg es un compuesto sumamente neurotóxico cuyos efectos potenciales deben ser detenidamente estudiados. Nuestros resultados muestran que los efectos tóxicos pueden generarse a concentraciones bajas (0.1mg/L) y que podrían afectar a la población más de lo que se había pensado. Los mecanismos de acción sobre diferentes tipos celulares del

Sistema Nervioso Central son un tanto sutiles (alteraciones en los astrocitos, células de Purkinje y daño axonal) y la demostración de su existencia son cuestiones sumamente complejas, que no nos permiten comprender en su totalidad su mecanismo de acción y que se está convirtiendo en un problema de salud pública en el mundo actual por la amplia distribución que tiene este compuesto en el medio ambiente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Boujbiha MA, Hamden K, Guermazi F, et al. Testicular toxicity in mercuric chloride treated rats: Association with oxidative stress. *Reprod Toxicol*. 2009;28(1):81–89.
2. FDA. Mercury Concentrations in Fish -FDA Monitoring Program (1990 -2010) Mercury Concentrations in Fish -FDA Monitoring Program (1990 -2010) Return to Advisory on Mercury in Seafood See also Mercury Levels in Commercial Fish and Shellfish. 2007:136.
3. Wan Ibrahim WN. Assessment of Environmental Contaminants' Neurotoxicity: In vitro and in vivo Experimental Studies. 2012.
4. Goldman LR, Shannon MW. Technical report: mercury in the environment: implications for pediatricians. *Pediatrics*. 2001;108(1):197–205. doi:10.1542/peds.108.1.197.
5. Davis LE, Kornfeld M, Mooney HS, et al. Methylmercury poisoning: Long-term clinical, radiological, toxicological, and pathological studies of an affected family. *Ann Neurol*. 1994;35(6):680–688. doi:10.1002/ana.410350608.
6. PNUMA. *Evaluación mundial sobre el mercurio.*; 2002.
7. Broussard LA, Hammett CA, Winecker RE, Miller JD. The toxicology of mercury. *N Engl J Med*. 2002;350(9):945–947. doi:10.1309/5HY1-V3NE-2LFL-P9MT.
8. Castoldi AF, Coccini T, Manzo L. Neurotoxic and molecular effects of methylmercury in humans. *Rev Environ Health*. 2003;18(1):19–31.
9. Clarkson TW, Magos L. The toxicology of mercury and its chemical compounds. *Crit Rev Toxicol*. 2006;36(8):609–662. doi:10.1080/10408440600845619.
10. WHO WHO, Apéndice P, La A, et al. Mercury in Drinking-water, Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. *Neurotoxicology Teratol*. 2005;12:191–202.
11. Aschner M, Yao CP, Allen JW, Tan KH. Methylmercury alters glutamate transport in astrocytes. *Neurochem Int*. 2000;37(2–3):199–206. doi:10.1016/S0197-0186(00)00023-1.
12. Eng LF, Ghirnikar RS, Lee YL. Glial Fibrillary Acidic Protein : GFAP-Thirty-One Years (1969-2000). *Neurochem Res*. 2000;25:1439–1451. doi:10.1023/A:1007677003387.
13. Sakaue M, Takanaga H, Adachi T, Hara S, Kunimoto M. Selective disappearance of an axonal protein, 440-kDa ankyrinB, associated with neuronal degeneration induced by methylmercury. *J Neurosci Res*. 2003;73(6):831–839. doi:10.1002/jnr.10715.
14. Rao M V., Chinoy NJ, Suthar MB, Rajvanshi MI. Role of ascorbic acid on mercuric chloride-induced genotoxicity in human blood cultures. *Toxicol Vitro*. 2001;15(6):649–654. doi:10.1016/S0887-2333(01)00081-9.
15. Bonacker D, Stoiber T, Wang M, et al. Genotoxicity of inorganic mercury salts based on disturbed microtubule function. *Arch Toxicol*. 2004;78(10):575–583.
16. Gardner RM, Nyland JF. Immunotoxic Effects of mercury. En: Esser C, ed. *Environmental Influences on the Immune System*. ; 2016:273–302.
17. Okazaki E, Oyama Y, Chikahisa L, Nagano T, Katayama N, Sakamoto M. Fluorescent estimation on cytotoxicity of methylmercury in dissociated rat cerebellar neurons: Its comparison with ionomycin. *Environ Toxicol Pharmacol*. 1997;3(4):237–244.
18. Castoldi AF, Coccini T, Ceccatelli S, Manzo L. Neurotoxicity and molecular effects of methylmercury. *Brain Res Bull*. 2001;55(2):197–203.
19. Costa LG, Aschner M, Vitalone A, Syversen T, Soldin OP. Developmental Neuropathology of Environmental Agents. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2004;44(1):87–110. doi:10.1146/annurev.pharmtox.44.101802.121424.
20. Armed Forces Institute of Pathology (U.S.) E. *Métodos histotecnológicos*. Washington: El Registro de Patología de los Estados Unidos de América; 1994.

ANÁLISIS DEL TIEMPO DE TRANSICIÓN DE IONES Na^+ Y Ca^{2+} A TRAVÉS DE MEMBRANAS DE INTERCAMBIO CATIONICO MODIFICADAS CON POLIANILINA.

G. Vázquez Rodríguez vazquez.g@ugto.mx¹, L. M. Torres Rodríguez luzmaria@uaslp.mx², A. Montes Rojas antonio.montes@uaslp.mx³.

¹Universidad de Guanajuato, Campus Guanajuato-División de Ingenierías, Av. Juárez No. 77 Col. Centro Guanajuato, Gto., México, C.P. 36250, ²⁻³Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Ciencias Químicas Av. Manuel Nava No. 6, Zona Unversitaria CP. 78210 San Luis Potosí, S.L.P., México.

RESUMEN

En el presente trabajo se analiza la permeación de iones Na^+ y Ca^{2+} través de membranas de intercambio catiónico modificadas con un depósito de polianilina (PANI). La electrodeposición de PANI se efectúa en H_2SO_4 y HClO_4 . La permeación de los iones a través de las membranas se definió el tiempo de transición de los iones a través de la membrana, lo que demostró que el depósito de PANI confiere propiedades selectivas al sistema al registrar que el número de transporte disminuye cuando la electrodeposición de PANI se lleva a cabo en H_2SO_4 .

INTRODUCCIÓN

Las estrategias de remediación de efluentes, concentración y recuperación de iones en recientes años siguen metodologías electroquímicas asistidas con membranas selectivas [1]. Los inconvenientes encontrados son la falta de selectividad. La literatura reporta rutas para modular la selectividad de membranas dentro de las que se encuentra la modificación superficial con depósitos de polímeros conductores electrónicos como polianilina y polipirrol, mismas que marcan diferencias morfológicas y electroquímicas [2]. Por lo anterior, este trabajo se presenta una membrana catiónica comercial modificada con películas de polianilina empleado técnicas electroquímicas, lo anterior sugiere control de las propiedades selectivas.

MÉTODO

Las membranas (Neosepta CMX Tokuyama Co., Japan), fueron modificadas con PANI mediante voltamperometría cíclica (900 y -200 mV y 100 mV/s en H_2SO_4 o HClO_4) a través de una interfase BAS Epsilon-EC Ver 1.31.65 NT. La celda empleada fue de tres electrodos donde el auxiliar fue un alambre de platino, el de referencia de Ag/AgCl 3M NaCl y el de trabajo fue pasta de carbono (relación 60:40 en peso grafito y nujol) sobre la cual se adhirió la membrana comercial [3]. El dispositivo experimental considero el diseñado por Marder en 2010 [4]. El tiempo de transición fue analizado mediante cronopotenciometría imponiendo una perturbación de corriente por un tiempo determinado al sistema de membranas empleando una fuente de poder de elaboración casera y multímetro UT70[5].

La determinación del número de transporte se realizó mediante el método cronopotenciométrico. Las curvas cronopotenciométricas fueron determinadas relacionando la diferencia de potencial en función al tiempo teniendo observadas en cuatro compartimentos separados por la membrana. Derivado de las curvas cronopotenciométricas se determinó el tiempo transición en las cercanías de la membrana. El número de transporte de Na^+ fue calculado con la ecuación de Sand [6] (ecuación 1).

$$\tau = \left(\frac{\pi D}{4} \right) \left(\frac{C_i^0 z_i F}{t_{m(r)} - t_s} \right)^2 \frac{1}{j^2}$$

Ecuación 1

D: coeficiente de difusión del electrolito, C_i^0 : concentración del contraión, z_i : carga del contraión, i : densidad de corriente, F : constante de Faraday, $t_{m(r)}$: número de transporte del contraión en la membrana, t_s : número de transporte del contraión en la solución.

RESULTADOS

La membrana de intercambio catiónico se llevó a cabo mediante voltamperometría cíclica. En la electrosíntesis de PANI con H_2SO_4 se aplicaron 100 ciclos y en el caso de la síntesis en HClO_4 125 ciclos. Posterior a la modificación de la membrana, ésta se retiró del electrodo de pasta para eliminar residuos de carbón. Posteriormente se re adhirió nuevamente para analizar su respuesta electroactiva en una solución libre de anilina. En la Figura 1 se presenta la respuesta voltamperométrica de las membranas modificadas con H_2SO_4 y HClO_4 , ambos voltamperogramas presentan una huella típica de PANI sobre electrodos metálicos [7].

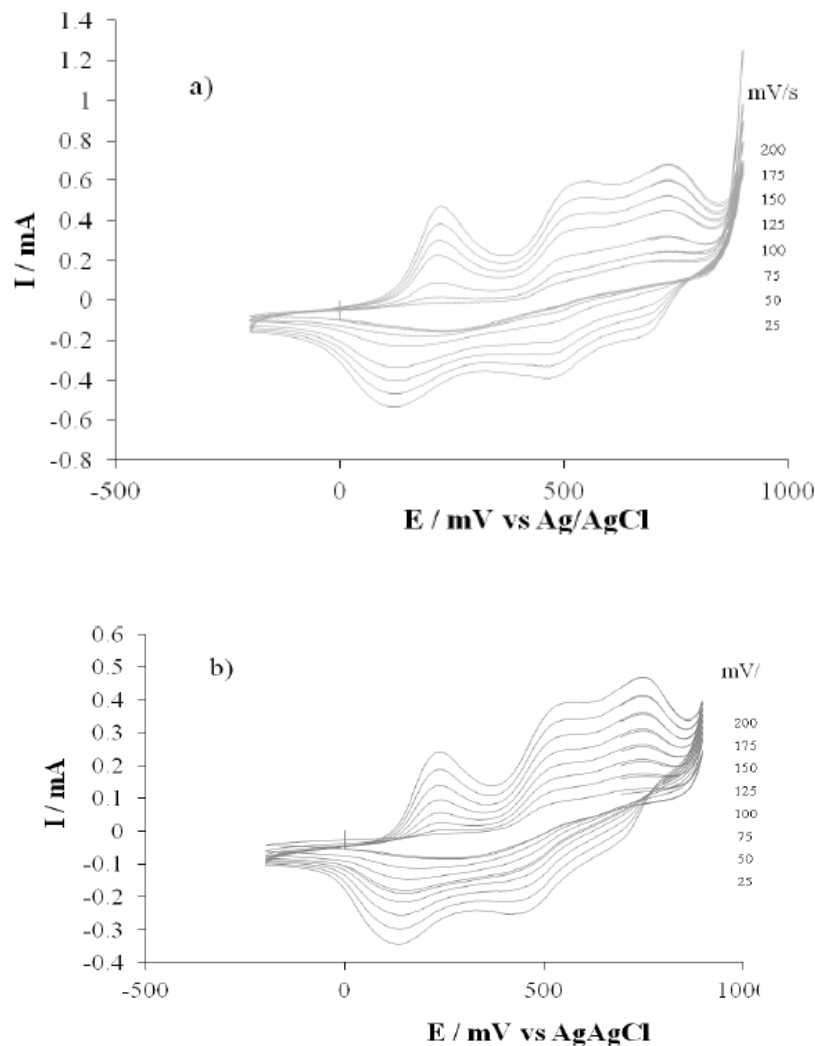


Figura 1. Respuesta voltamperométrica del depósito de PANI en la membrana de intercambio catiónico, modificada en H_2SO_4 (a) y HClO_4 (b).

El análisis cronopotenciométrico permitió determinar el tiempo de transición en donde la concentración del ión a través de la membrana es agotada en las cercanías de la capa de difusión. Los resultados del análisis del tiempo de transición en las membranas modificadas (Figura 2), para una misma corriente aplicada, sugieren que el depósito de Polianilina sintetizado en HClO_4 es más compacto que el sintetizado en H_2SO_4 .

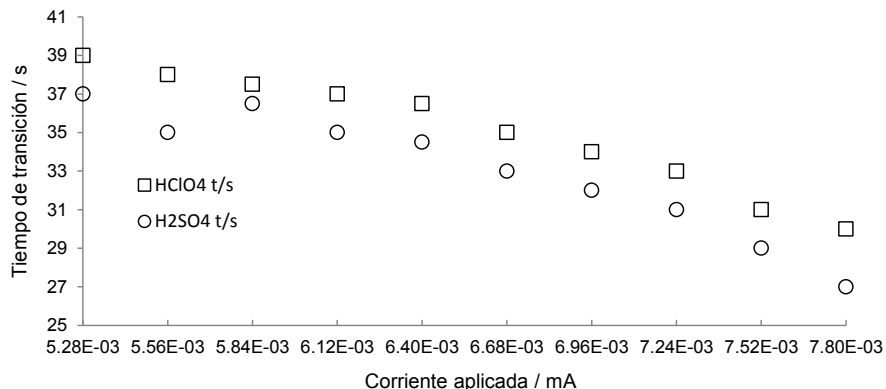


Figura 2. Tiempo de transición de Na^+ , analizado en membranas electro modificadas con Polianilina en HClO_4 y H_2SO_4 .

El tiempo que indica el agotamiento del contraión en las cercanías de la membrana (tiempo de transición) fue determinado mediante las curvas cronopotenciométricas experimentales (figura 2). Éste se determina trazando la intersección de las tangentes en la primer y segunda inflexión. El tiempo de transición del contraión se calculó aplicando la ecuación 2. El parámetro es relacionado a la concentración y coeficiente de difusión del electrolito mediante la ecuación de Sand:

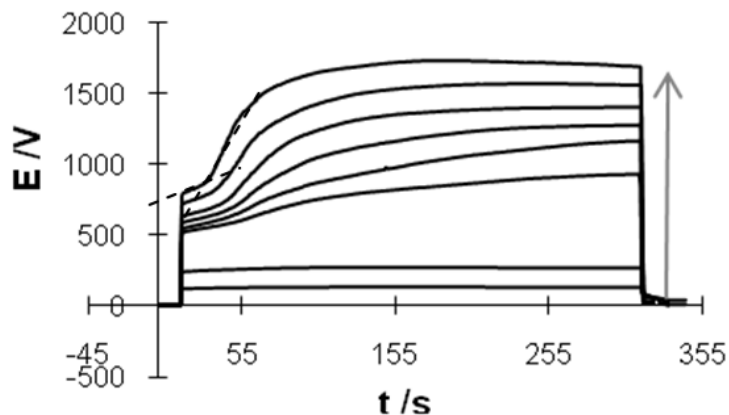


Figura 2. Análisis cronopotenciométrico [NaCl 0.1M] para la membrana CMX con depósito de PANI por 60 segundos.

CONCLUSIONES

Se obtienen membranas comerciales de intercambio catiónico electro modificadas con polianilina. Se observa que el depósito de PANI y el dopante utilizado en la electrosíntesis le confiere propiedades selectivas a la membrana en función al tamaño de los iones. El tiempo de transición refleja un proceso selección en función del tamaño del ión y contenido de agua.

AGRADECIMIENTOS

Se expresa gratitud a CONACyT por el apoyo a través del fondo CB 2008-01, registro 105875 y número de beca 48994, Al laboratorio de electroquímica de la Facultad de Ciencias Químicas de la UASLP por el apoyo otorgado mediante el Fondo Concurrente 2010 y PIFI 2011.

REFERENCIAS

1. T. Sata, *Pure Appl. Chem.*, 12, (1986) 1613.
2. T. Sata, T. Funakoshi, K. Akai, *Macromol. Res.*, 29 (1996) 4029.
3. A. Montes, et. al., *J. Membr. Sci.*, 300 (2007) 2.
4. L. Marder, *Estudo do transport de ions metalicos a través de una membrana ion-selectiva cationica a partir da cronopotenciometria. Mestre em Engenharia, Porto Alegre (2007).*
5. C. Larchet, et. al., *Adv. Colloid. Interf. Sci.*, 139 (2008) 45.
6. S. Mafé, J.A. Manzanares, P. Ramirez, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 5 (2003) 376.
7. A. M. Bonaste, P. N. Bartlett, *Anal. Chim. Acta*, 676 (2010) 1.

JABÓN LÍQUIDO PARA MANOS A PARTIR DE COCOAMIDA Y AGAR-AGARJuana Beatriz Ortiz Ciénega¹, Mónica Móndeño Villaseñor², Rosa Elena Toral Castillo³

Escuela de Nivel Medio Superior de León, CNMS, Universidad de Guanajuato.

RESUMEN

El proyecto consiste en la elaboración de un surfactante usado como jabón líquido para manos a partir de ingredientes biodegradables, el objetivo es reducir el consumo de sustancias en el jabón que pueden dañar al ser humano de manera continua al igual que al planeta. El jabón busca eliminar todo posible germen que causaría el contagio de infecciones, por medio de productos que funcionan de igual manera que los componentes químicos del jabón industrializado.

El jabón es una sustancia que se utiliza constantemente en la sociedad actual, como parte de los medios de higiene que contribuyen a prevenir el contagio de infecciones tanto cutáneas como digestivas e incluso enfermedades respiratorias como la influenza. El jabón líquido almacenado en un despachador evita que esté en contacto directo con el usuario, como ocurre con el jabón sólido, lo cual disminuye el riesgo de que se alojen residuos.

El agar-agar actualmente es muy utilizado en las industrias como gelificante, para mimetizar la gelatina, así como en otros productos gelatinosos. Un surfactante o tensoactivo es una sustancia que rompe la tensión superficial. Los surfactantes no iónicos son buenos detergentes, humectantes y emulsionantes. Algunos poseen excelentes propiedades espumantes. La cocoamida DEA, es un surfactante no iónico, biodegradable y con muy baja toxicidad. Es usado como agente espumante en productos cosméticos como champús y en los jabones de mano como un agente emulsificante.

INTRODUCCIÓN

El jabón es una sustancia que se utiliza constantemente en la sociedad actual, como parte de los medios de higiene que contribuyen a prevenir el contagio de infecciones tanto cutáneas como digestivas e incluso enfermedades respiratorias como la influenza. El jabón líquido almacenado en un despachador evita que dicha sustancia esté en contacto directo con el usuario, como ocurre con el jabón sólido. Lo anterior a su vez disminuye el riesgo de que algún residuo sea dejado por el usuario previo.

Se utiliza un surfactante que rompe la tensión superficial y esto permite que la grasa de la mugre pueda ser removida. Otra diferencia que a menudo pasa desapercibida del jabón, es cuando este entra en el medio ambiente. Los jabones naturales son biodegradables, respetuosos con el medio ambiente y no se originan a partir del petróleo, el cual hace mucho daño al medio ambiente. Gracias a este proyecto podemos mejorar la salud de nuestra piel con los ingredientes del jabón que estamos utilizando, hacer nuestros propios jabones y mejorar nuestra calidad de vida y del planeta.

TEORÍA

Como si se tratara de una batería con polos positivo y negativo, una molécula de jabón también tiene dos extremos de diferente afinidad. En el agua, el jabón forma entre 100 y 200 micelas; es decir, asociaciones o conglomerados de moléculas que orientan sus cabezas con carga hacia la superficie del agregado molecular, mientras que las cadenas alifáticas quedan hacia dentro. La micela es una partícula energéticamente estable, ya que los grupos con carga están unidos mediante enlaces de hidrógeno de baja energía con las moléculas del agua circundante, mientras que los grupos afines a las grasas se orientan hacia el interior de la micela e interactúan con otros grupos de características similares.

Los jabones limpian debido a las afinidades diferentes de los extremos de sus moléculas. La suciedad grasa no se elimina fácilmente sólo con agua, que la repele por ser insoluble en ella. Sin embargo, el jabón posee una cadena larga alifática o hidrocarbonada sin carga que interactúa con la grasa, disolviéndola, mientras que la región con carga se orienta hacia el exterior, formando gotas. Una vez que la superficie de la gota grasa está cubierta por muchas moléculas de jabón, se forma una micela con una pequeña gota de grasa en el interior. Esta gota de grasa se dispersa fácilmente en el agua, ya que está cubierta por las cabezas con carga. La mezcla que resulta de dos fases insolubles (agua y grasa), con una fase dispersada en la otra en forma de pequeñas gotas, se

denomina emulsión. Por lo tanto, se dice que la grasa ha sido emulsionada por la solución jabonosa. De esta manera, en el proceso de lavado con un jabón, la grasa se elimina con el agua del lavado. El agar consiste en una mezcla de dos tipos de polisacáridos, la agarosa y la agarpectina. La agarosa es el componente principal, representando alrededor del 70% del total.

El agar se extrae principalmente de las algas rojas *Gelidium spp* y *Gracilaria spp*, pudiendo alcanzar en las especies de *Gracilaria* el 31% en peso seco. El agar extraído de estas algas, también llamado agar-agar, se ha utilizado en la cocina tradicional japonesa, por sus propiedades gelificantes, desde hace muchos siglos.

Actualmente es muy utilizado en las industrias como gelificante, en productos cárnicos y de pescado, para mimetizar la gelatina, así como en otros productos gelatinosos. También se usa como estabilizante. Además, debido a que es un polisacárido no digerible, desde el punto de vista nutricional forma parte de la fibra alimentaria pues son muy raras las enzimas capaces de degradar el agar, incluso entre los microorganismos. Por eso el agar es también un valioso medio de cultivo en bacteriología, utilizándose en esta aplicación desde 1880. Otras aplicaciones descritas para el agar-agar son: capacidad de disminuir la concentración de glucosa en sangre y potencial como antioxidante y anticancerígeno. Los ingleses utilizan la palabra "surfactante" (agente activo de superficie) para denotar una sustancia que posee una actividad superficial.

La palabra "surfactant" no tiene una traducción exacta en español, lengua en la cual se usa el término genérico de "tensoactivo", que se refiere a una actividad o a una acción sobre la tensión superficial. Este término es equivalente a surfactante solo si se supone que la actividad superficial se traduce necesariamente por un descenso de la tensión, lo cual es verdad en la mayor parte de los casos que tienen un interés práctico.

En general, el término tensoactivo se refiere a una propiedad de la sustancia. Los tensoactivos tienen muchas otras propiedades y se les califica según las aplicaciones: jabones, detergentes, dispersantes, emulsionantes, espumantes, bactericida, inhibidores de corrosión, antiestático, etc.

Durante los últimos 30 años, los surfactantes no iónicos han alcanzado cada día mayor importancia, hasta representar hoy más del 25% de la producción total de surfactantes.

Estos surfactantes no iónicos no producen iones en solución acuosa y por este hecho son compatibles con cualquier otro tipo; es por esto que son excelentes candidatos para formulaciones complejas que se consiguen a menudo en aplicaciones prácticas.

Por otra parte, estos surfactantes son menos sensibles a los electrolitos, especialmente a los cationes divalentes, que los aniónicos, y pueden por lo tanto ser utilizados en presencia de una salinidad alta.

Los surfactantes no iónicos son buenos detergentes, humectantes y emulsionantes. Algunos poseen excelentes propiedades espumantes. Algunos presentan un muy bajo nivel de toxicidad y se utilizan en la fabricación de fármacos, cosméticos y alimentos.

Hoy se consiguen surfactantes no iónicos en una gran cantidad de productos de uso doméstico e industrial, condicionados bajo forma de polvo o líquidos.

La cocoamida DEA o cocoamida dietanolamina, es un surfactante no iónico, biodegradable y con muy baja toxicidad, elaborado al mezclar los ácidos grasos de los aceites de coco con la dietanolamina. Es un líquido viscoso que tiene una masa molar de 280-290 g/mol. Es usado como agente espumante en productos cosméticos como champús y en los jabones de mano como un agente emulsificante.

El sorbato de potasio es un conservante suave, actúa principalmente contra hongos y levaduras, es utilizado en una variedad de aplicaciones incluyendo alimentos, vinos y cuidado personal, es usado principalmente en los productos lácteos y en el pan de centeno. (Villada, 2010)

En base a numerosos estudios se ha establecido que los sorbatos inhiben el crecimiento de hongos, levaduras y bacterias. Sin embargo, su efectividad es más pronunciada frente a las levaduras y hongos. Se sabe que los sorbatos bloquean la germinación y el desarrollo celular.

Los sorbatos son usados como antimicrobianos en una amplia gama de alimentos: quesos, yogurt, productos de panadería, jugos de frutas, mermeladas, bebidas alcohólicas, mayonesas, margarinas, productos cárnicos y embutidos.

Los sorbatos presentan la ventaja de ser efectivos en aún en el rango de pH comprendido entre 6 y 6.5. Son considerados como aditivos "Gras" (Generally recognized as safe), esto se basa en los numerosos estudios que se han realizado para establecer su inocuidad.

El uso de sorbatos en productos cosméticos y farmacéuticos, en general, produce riesgos mínimos a las reacciones alérgicas en la piel. Estas, solamente se han observado en individuos particularmente sensibles.

La biodegradabilidad del sorbato de potasio es de 95% en seis días, lo que lo hace un producto fácilmente biodegradable.

PARTE EXPERIMENTAL

Material utilizado para la experimentación.

- Equipo de calentamiento.
- Vaso de precipitados de 250 mL.
- Agitador de vidrio.
- Vidrio de reloj.
- Espátula.
- Probeta de 50 mL.
- Envase despachador para el jabón.

Sustancias

- Cocoamida.
- Agar-agar.
- Sorbato de potasio.
- Colorante vegetal verde.
- Agua destilada.
- Colorante vegetal

Procedimiento

1. Medir 50mL de agua en la probeta.
2. Medir 2 g de agar-agar en el vidrio de reloj.
3. Colocar el agua en el vaso de precipitados y calentar hasta que hierva.
4. Agregar lentamente el agar-agar y agitar hasta que la disolución espese.
5. Apagar el mechero.
6. Añadir el colorante vegetal verde e incorporar agitando.
7. Adicionar dos 10 mL cocoamida y seguir agitando.
8. Dejar enfriar y agregar 0.3% en masa del sorbato de potasio.
10. Envasar en el despachador.

RESULTADOS

La cantidad requerida de agar-agar para que el jabón espese adecuadamente es 0.7 gramos. Se agregaron 0.2 gramos de sorbato de sodio, que tiene densidad 0.99 g/mL.

El jabón obtenido hizo espuma suficiente para lavar las manos adecuadamente.

Tras diez días de haberlo preparado, el jabón conservaba un buen aroma y buena consistencia, sigue funcionando como es requerido.

CONCLUSIONES

Dentro de los aspectos a mejorar, está el producir jabón en mayor volumen, lo que requerirá mayor cuidado al momento de trabajar con fuego y con la báscula.

Se considera muy importante este jabón porque permite cuidar los tres ejes de la sustentabilidad: social, económico y ambiental, al reutilizar el envase donde antes se tenía un jabón diferente.

Se usaron productos más naturales que los de algunos otros jabones de grandes marcas, además de que los ingredientes son biodegradables y ayudan al planeta y cuidan nuestra piel.

Otra ventaja es que, si es de un gusto particular ver un color en un jabón, o bien, no se encuentra disponible el que se desea, se puede hacer al gusto propio. También se reduce el uso de productos que dañan demasiado el medio ambiente, como lo es el aceite de palma.

BIBLIOGRAFÍA

1. R. M. Abd. Stability of water-in-crude oil emulsion using cocoamide surfactant. *Journal of applied sciences*, 2014, página 3720.
2. C. Campos, Estabilidad del ácido sórbico durante la preservación y el almacenamiento de alimentos. Buenos Aires.: Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. 1995, Universidad de Buenos Aires.
3. E. Gómez, Evaluación nutricional y propiedades biológicas de las algas marinas comestibles. Estudios in vitro e in vivo. 2013, Madrid: Universidad Complutense de Madrid Departamento de Farmacia.
4. GTM. Ficha de datos de seguridad del Sorbato de potasio 2017. Obtenido de <http://www.gtm.net/images/industrial/s/SORBATO%20DE%20POTASIO.pdf>
5. I. Regla, La química del jabón y algunas aplicaciones. *Revista digital universitaria*. 2014, 15(5), 1-2,4. Obtenido de <http://www.revista.unam.mx/vol.15/num5/art38/>
6. J. Salager. *Surfactantes tipos y usos*. 2002, Mérida: Universidad de los Andes Facultad de ingeniería.
7. J. Villada, *Conservadores químicos utilizados en la industria alimentaria*. 2010, Saltillo: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.