

DETERMINACIÓN DE OCRATOXINA A EN MAÍZ Y PRODUCTOS DERIVADOS COMERCIALIZADOS EN LA CIUDAD DE MORELIA MICHOACÁN.

Wilmer Castillo Najar, Virginia A. Robinson Fuentes

Universidad Michoacana De San Nicolas De Hidalgo

RESUMEN

La ocratoxina A (OTA) es una micotoxina producida por los géneros *Aspergillus sp.* y *Penicillium sp.* Esta micotoxina contamina alimentos de consumo humano, principalmente cereales (maíz, trigo, arroz, etc.) y derivados, bebidas alcohólicas y productos de molienda como el café y el cacao, entre otros. OTA representa un riesgo para la salud por su actividad neurotóxica, inmunosupresora, genotóxica, carcinógena y teratogénica. En México se desconoce el grado de contaminación de alimentos por OTA. En este trabajo se busca conocer el grado de contaminación del maíz y algunos de sus derivados mediante el análisis de 34 muestras de maíz y derivados comercializados en mercados y tiendas de autoservicio de la ciudad de Morelia Michoacán, mediante una prueba inmunoenzimática (ELISA). Se encontró presencia de OTA en el 100% de las muestras (maíz de grano y productos derivados). El maíz de grano presentó un promedio de concentración de 3.41 µg/kg, para harinas de maíz 3.19 µg/kg, en los cereales para el desayuno 3.509 µg/kg. Las frituras de maíz presentaron 3.381 µg/kg. Ninguna de las muestras de grano superó el límite permitido por la Unión Europea (5 µg/kg). Solo una muestra de harina de maíz y una de frituras de maíz se encontraron por debajo del límite U.E. para derivados de maíz (3 µg/kg). Es importante continuar el monitoreo de presencia de OTA en otros productos a los aquí mencionados para ampliar las referencias de productos nacionales e importados que consumimos, así como la atención de las autoridades acerca de la legislación y regulación de la OTA.

INTRODUCCIÓN

La ocratoxina A (Figura 1), es una molécula formada por un anillo de 3,4-dihidro metil isocumarina unido por medio de su grupo carboxilo y través de un enlace tipo amida a una molécula de fenilalanina. Esta micotoxina fue encontrada por primera vez en muestras de maíz africanas (Ravelo *et al.*, 2011). Es muy 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 ultravioleta (Blanco *et al.*, 2007).

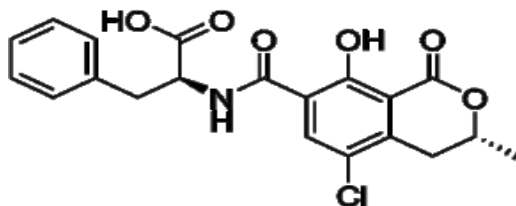


Figura 1. Estructura química de OTA

OTA es producida por organismos de los géneros *Aspergillus sp.* y *Penicillium sp.* En regiones con clima frío se cree que el hongo *Penicillium verrucosum* es el principal causante de contaminación por OTA, mientras que en las regiones de clima tropical algunas especies de *Aspergillus* (como *A. Ochraceus*) (Méndez-Moreno, 2009).

OTA contamina alimentos de consumo humano, principalmente cereales y derivados, bebidas alcohólicas y productos de molienda como el café y el cacao (Ravelo *et al.*, 2011). Aunque también se puede encontrar un nivel de contaminación considerable por consumo de otros alimentos como granos de café verde, la carne y sus derivados, las uvas, el vino, las pasas e higos secos, el chocolate, las legumbres, la cerveza y las especias (Duarte *et al.*, 2009). Los niveles de ocratoxina A en los alimentos están fuertemente relacionados con las condiciones de producción y conservación de estos (Ravelo *et al.*, 2011).

En cuanto a la regulación de las concentraciones de OTA en alimentos, los Estados Unidos y la Comisión Europea han establecido límites máximos de tolerancia. Para los cereales no destinados al consumo humano el límite es de 5 microgramos por kilogramo (Dehgham *et al.*, 2014).

La información en México respecto a la contaminación por micotoxinas en los alimentos está limitada por muchos factores: los recursos disponibles para investigaciones, las facilidades de los laboratorios para los análisis, los procedimientos de muestreo y la sensibilidad de los métodos de cuantificación utilizados. Actualmente en 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 la NOM-188-SSA1-2002 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.

Entre los métodos más usuales empleados para la determinación y cuantificación de los niveles de Ocratoxina A, debido a la rapidez y alta sensibilidad se incluyen Cromatografía líquida de alta resolución, Cromatografía de capa fina, Cromatografía de intercambio iónico y Técnicas de electroforesis capilar (Ravelo *et al.*, 2011). Existen también otros métodos de análisis que deben cumplir con ciertas características: rápidos, baratos y fáciles de utilizar y de transportar sin la necesidad de una infraestructura muy ostentosa. Un ejemplo de este tipo de métodos es la determinación por ELISA cuyo manejo se ajusta a medidas de seguridad establecidas, reduce factor costo/tiempo invertido en la investigación, así como proporciona resultados cualitativos y cuantitativos (Bellver *et al.*, 2013).

OBJETIVO

Determinar la presencia y los niveles de Ocratoxina A presentes en muestras de granos de maíz y subproductos que se comercializan en la ciudad de Morelia, Michoacán.

MATERIALES Y METODOS

Se colectaron 34 muestras de maíz y sus derivados, los productos derivados de maíz consistieron en 2 harinas de maíz, 4 cereales para desayuno a base de maíz y 9 frituras a base de maíz; todas las muestras se compraron en el mercado de Abastos, el Mercado Revolución (San Juan), el Mercado Nicolás Bravo (Santo Niño) y diferentes centros comerciales de autoservicio en la ciudad de Morelia, Michoacán.

La extracción de OTA se llevo a cabo tomando una muestra representativa de 10 g del producto que fue finamente triturada; se utilizó acetonitrilo al 80% en agua destilada como solvente de extracción, de acuerdo al manual de procedimiento del fabricante del kit de ELISA. Se transfirieron los 10 g de cada muestra previamente molida y tamizada a 50 mL de solvente de extracción y se agitó en contenedor con tapa por 5 min. La muestra se centrifugó a 3,500 rpm por 5 min. Con el sobrenadante obtenido se preparó una solución 1:10 con metanol al 70% en agua destilada el cual se mantuvo en refrigeración a 4°C. Las muestras se analizaron mediante una prueba ELISA mediante de un kit comercial marca Helica® (CAT.NO.9610CH01COFN-96)

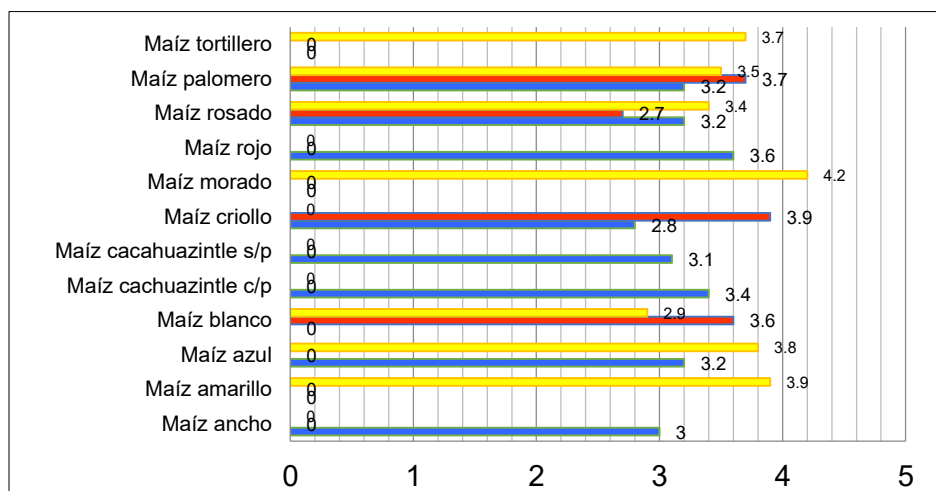
RESULTADOS

Los resultados del análisis por ELISA se muestran en la tabla 1. En los granos de maíz el 100% de las muestras contienen OTA, la concentración promedio fue de 3.41µg/kg en intervalos de concentración de 2.73µg/kg - 4.16µg/kg. ninguna de las muestras de granos de maíz presento concentraciones por arriba de las permitidas por la Union Europea.

En la grafica 1 se pueden observar los niveles de los diferentes tipos de maíz utilizados en este estudio, asi como la procedencia de las muestras: en color azul las muestras procedentes del mercado de abastos, en color rojo las procedentes del mercado de San Juan y en color amarillo las pertenecientes al mercado del Santo Niño.

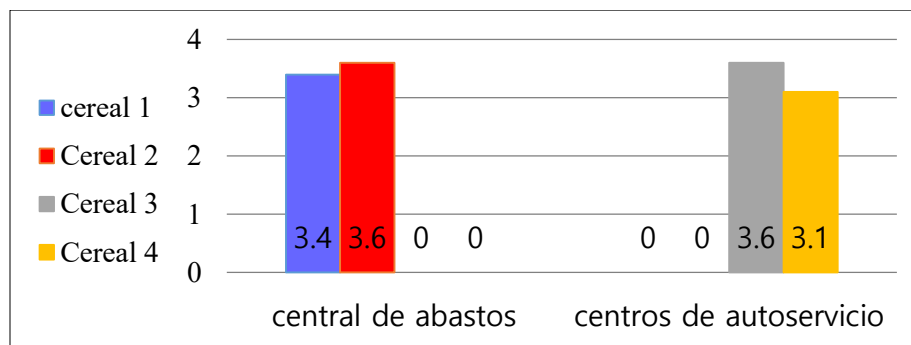
Producto	Numero de Muestras	Incidencia	Concentración Promedio (µg/Kg)	Intervalos de Concentración (µg/Kg)	Limite U.E (µg/Kg)
Granos de maíz	18		3.4	2.73 - 4.16	5
Cereales para desayuno	4	100%	3.5	3.19 - 3.69	
Frituras de maíz	7		3.21	2.991 a 6.51	3
Harinas de maíz	2		3.38	2.98 - 3.44	

Tabla 1. Valores de OTA en muestras de maíz y derivados



Grafica 1. incidencia de OTA en granos de maíz.

En los cereales para desayuno el promedio de concentración fue de 3.5µg/kg, con un intervalo entre los 3.19µg/kg - 3.69µg/kg. todas por arriba de los limites de la U.E. Los cereales coloreados en rojo y azul que se muestran en la grafica 2, corresponden a muestras provenientes de centros de la central de abastos las cuales presentan concentraciones más altas que los representados en gris y amarillo provenientes de los centros de autoservicio de la ciudad.



Grafica 2. Contenido de OTA en cereales para el desayuno.

Las harinas de maíz presentaron un valor de $3.21\mu\text{g}/\text{kg}$ con un intervalo de concentración de $2.98\mu\text{g}/\text{kg}$ - $3.44\mu\text{g}/\text{kg}$. Sólo una muestra rebasó los límites permitidos. Las frituras de maíz comprenden un intervalo de $2.99\mu\text{g}/\text{kg}$ - $6.51\mu\text{g}/\text{kg}$ siendo este el valor más alto de concentración de OTA de todas las muestras, con un promedio de $3.38\mu\text{g}/\text{kg}$. De éstas, solo 1 se encontró por debajo de los límites permisibles ($3.\mu\text{g}/\text{Kg}$).

CONCLUSIONES

La contaminación por ocratoxina A en las muestras analizadas es positiva, se encuentra en el 100% de las muestras. Si bien, no todos los niveles de contaminación sobrepasan los límites que se han utilizado como referencia, debe mencionarse que hay que poner especial atención en el consumo, producción y reglamentación de los productos que sobrepasan dichos límites.

Los hongos productores de ocratoxina A no son específicos de ciertos productos selectos, la gama de cereales, frutos, bebidas y productos derivados de estos que son capaces de contaminar con OTA es basta y extensa, es por eso que se recomienda continuar con el trabajo de investigación, delimitar los niveles de contaminación presentes en otros productos a los aquí mencionados y así ampliar las referencias de los productos nacionales e importados que se consumen día con día para poder llamar la atención de las autoridades sobre la latente problemática en salud alimentaria que la OTA representa.

BIBLIOGRAFÍA

- Bellver J., Fernández-Franzón M., Ruiz, M.J., & García A. (2014). Presence of Ochratoxin A (OTA) Mycotoxin in Alcoholic Drinks from Southern European Countries: Wine and Beer. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 62, 7643-7651.
- Blanco, R. Pavón, M. González, I. García, T. Martín, M.R. (2007). Detección de Ocratoxina A en higos secos utilizando el anticuerpo MAP1 y una técnica de ELISA competitivo. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*. 1 (2): 246-252.
- Dehgham P., Pakshir K., Rafiei H., Chadeganipour M., & Akbari M. (2014). Prevalence of Ochratoxin A in Human Milk in the Khorrambid Town, Fars Province, South of Iran. *Microbioly*, 7 (7), 1-4
- Duarte, S. C., Pena, A., & Lino, C. M. (2010). A review on ochratoxin A occurrence and effects of processing of cereal and cereal derived food products. *Food Microbiology*, 27(2), 187-198.
- Méndez-Albores, A. Y Moreno-Martínez, E. (2009). Las micotoxinas: contaminantes naturales de los alimentos. *Comunicaciones libres*. Julio-septiembre.

6. Norma Oficial Mexicana Nom-188-Ssa1-2002, Productos Y Servicios. Control De Aflatoxinas En Cereales Para Consumo Humano Y Animal. Especificaciones Sanitarias. Diario Oficial de la Federación. 15 de octubre del 2002.
7. Ravelo A., Rubio C., Gutiérrez, A.J., & Hardisson, A. (2011). La Ocratoxina A en alimentos de consumo humano. *Nutrición Hospitalaria*, 26 (6), 1215-1226.

CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE EXTRACTOS VEGETALES, COMO ALTERNATIVA POTENCIAL EN ODONTOLOGÍA

Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis, René Hernández Delgadillo, Casiano del Ángel Mosqueda, Abelardo Chávez Montes, Ezequiel Viveros Váldez, Sonia Martha López Villarreal, Claudio Cabral Romero.

Facultad de Odontología, Facultad de Ciencias Biológicas

RESUMEN

El uso de medicina tradicional por la población se ha incrementado, ya que las plantas contienen principios activos con acción terapéutica. La caries y la enfermedad periodontal son las dos enfermedades orales más comunes. Se ha reportado resistencia antimicrobiana y citotoxicidad, de los principales antimicrobianos bucales empleados para eliminar los agentes microbianos. Se obtuvieron extractos de plantas *Moringa oleífera* (Moringa), *Acacia farnesiana* (L.) Willd (Huizache) y *Artemisa absinthium* (Ajenjo). Los extractos se obtuvieron con diversos solventes mediante maceración y mediante pruebas químicas y cromatografía en capa fina, se caracterizaron fitoquímicamente de manera parcial, empleando diversos sistemas elüentes. Posteriormente, se valoró su acción antimicrobiana mediante ensayos de difusión en agar a diversas concentraciones contra cepas plantónicas de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* y *Enterococcus faecalis* (ATCC). Los extractos respondieron de manera positiva para la presencia de fenoles, terpenos y flavonoides principalmente. Todos los extractos mostraron acción antimicrobiana, con halos de inhibición promedio desde 9 ± 1.1 mm hasta 18.33 ± 1.52 mm; comparándose con el control positivo (clorhexidina), con cifra de 14.23 mm. Conclusión: Fue posible identificar grupos químicos en los extractos vegetales obtenidos, presentaron acción antimicrobiana favorable. Constituyen una alternativa para continuar estudiando y valorando su aplicación en el tratamiento contra patógenos orales y posibilitar ser incorporados como parte complementaria del tratamiento clínico diario y diseñar alternativas para aminorar la incidencia de enfermedades orales.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades bucales se presentan hasta en el 90% de la población, siendo los principales padecimientos la caries dental, que es la enfermedad infecciosa más común entre humanos, se denomina como un proceso infeccioso, patológico localizado y transmisible que resulta en la destrucción de los tejidos dentales duros, y la enfermedad periodontal¹. Ambas se asocian con la presencia de microorganismos en la cavidad oral, que al interactuar con sus productos excretados en el huésped producen daño, originando sintomatologías, entre las que se encuentran principalmente inflamación de los tejidos gingivales o destrucción de los tejidos dentales. Estos padecimientos son contrarrestados con tratamientos convencionales de primera elección, que en algunos casos pueden mostrar efectos adversos o no tener efectos debido a la resistencia de los microorganismos a los agentes antimicrobianos empleados o a la presencia de factores que involucran al estado de salud del paciente. Las plantas producen productos llamados principios activos, que son sustancias que ejercen una acción farmacológica, beneficiosa o perjudicial sobre un organismo vivo. Su utilidad primordial, es disminuir o neutralizar el desequilibrio orgánico, que alivie la enfermedad o restablezca la salud perdida. Se ha descrito el papel de los principios activos de extractos vegetales como una alternativa favorable. Por lo que, la búsqueda de principios activos de origen natural con acción antimicrobiana es una alternativa necesaria, ya que el uso de la medicina a base de plantas está profundamente arraigada a la cultura mexicana donde se emplea la medicina tradicional². Recientemente se ha incrementado su estudio, con el fin de sustentar su uso como una nueva posibilidad de tratamiento ya que han mostrado aplicación en diversas áreas de la salud para brindar atención a problemáticas generales mostrando acciones diversas con indicaciones terapéuticas como analgésica, antimicrobiana, coagulante y antiinflamatoria entre otras.

ENFERMEDADES ORALES

La cavidad oral es un reservorio importante para numerosas especies bacterianas, se considera un ecosistema con humedad, factores nutricionales y de temperatura ideal para el desarrollo microbiano, lo que permite ser un factor determinante en el desarrollo de caries. La caries dental es una enfermedad infecciosa, transmisible que resulta en la destrucción de los tejidos dentales duros, la enfermedad periodontal, es otra enfermedad común, caracterizada por el daño a los tejidos que soportan los dientes, representando las dos enfermedades orales con mayor prevalencia a nivel mundial. La caries dental se ha reportado que llega a afectar alrededor del 77% de los niños en edad escolar³. Se define como la enfermedad infecciosa de origen multifactorial caracterizada por el reblandecimiento del tejido duro del diente que evoluciona hasta formar una cavidad⁴.

El proceso de caries se puede entender como el resultado de los ácidos generados por el biofilm dental a partir de los hidratos de carbono fermentables de la dieta causando desmineralización⁵ lo cual conlleva a una degradación del órgano del esmalte produciéndose una cavidad que daña a profundidad la estructura del diente en caso de no recibir tratamiento. Su origen infeccioso se relaciona principalmente con el *Streptococcus*, siendo *Streptococcus mutans* el patógeno bacteriano considerado como principal agente causante de la caries dental en colaboración de *Streptococcus sobrinus*, patógenos identificados en lesiones⁶.

El empleo excesivo de los antibióticos ha contribuido al desarrollo de resistencia bacteriana a los antimicrobianos utilizados⁷; además, las reacciones de sensibilidad a los medicamentos es cada vez más común. Por tal razón, la búsqueda de nuevas alternativas en el tratamiento odontológico es necesaria. Actualmente, la caries dental representa una enfermedad que afecta a más del 60% de la población y su origen infeccioso se relaciona con *Streptococcus*. La terapia convencional puede incluir la prescripción de medicamentos dependiendo la sintomatología, observándose efectos adversos durante el empleo de los mismos. *Enterococcus faecalis* es la especie más frecuente en infecciones intrarradiculares y en infecciones persistentes ya que resiste a propiedades antimicrobianas de medicamentos que son empleados⁸. Por estas razones, es necesario el conocimiento de los agentes etiológicos de las enfermedades orales que favorezca la búsqueda de estrategias para contrarrestarlas. El objetivo del trabajo fue obtener extractos de plantas y valorar su efecto antimicrobiano de las plantas *Moringa oleífera*⁹ (Moringa), *Acacia farnesiana* (L.) Willd¹⁰. (Huizache) y *Artemisa absinthium*¹¹ (Ajenjo), contra bacterias de importancia odontológica..

PARTE EXPERIMENTAL

Se realizó un estudio experimental, en el cuál se obtuvieron muestras de las plantas *Moringa oleífera* (Moringa), *Acacia farnesiana* (L.) Willd (Huizache), *Artemisa absinthium* (Ajenjo) en lugares estratégicos para su venta. Se realizaron los extractos para cada planta mediante maceración. Se pesaron 100 g de planta seca y se colocaron en agitación continua con etanol y metanol, realizándose dos extracciones a las 24 horas, se concentraron en un matraz y posteriormente se eliminó el solvente empleando el rotaevaporador bajo presión reducida, finalmente se concentraron, se obtuvieron rendimientos y se caracterizaron fitoquímicamente de manera parcial, mediante pruebas químicas colorimétricas y cromatografía en capa fina, empleándose diversos sistemas elüentes, posteriormente se valoró la acción antimicrobiana de los extractos a concentraciones de 1mg/mL, mediante ensayos de difusión en agar Müller Hinton. Se inocularon 100 µl de cada una de las cepas a estudio, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* y *Enterococcus faecalis* (ATCC), sembrándose en estrías cerradas, posteriormente se realizaron los pozos en el agar y se inocularon 20 µl de cada extracto. Se incubaron y analizaron los resultados, comparándose con los controles, positivo clorhexidina 0.12%, negativos etanol y metanol, midiendo en milímetros los halos de inhibición presentados a 18 horas

RESULTADOS

Se encontró que los extractos presentaron un comportamiento de reacción positiva para la presencia de fenoles, terpenos y flavonoides principalmente. Los tres extractos mostraron buena acción antimicrobiana, contra las bacterias a estudio, teniendo mayor respuesta *Moringa oleifera* (Moringa), seguido de *Artemisa absinthium* (Ajenjo) y finalmente *Acacia farnesiana* (L.) Willd. (Huizache), contra *Streptococcus mutans* con halos de inhibición promedio de 18.33 ± 1.52 , 12, y 10 mm respectivamente. Para *Streptococcus sobrinus* los resultados fueron muy similares, y para *Enterococcus faecalis* la inhibición fue menor con halos de 9 ± 1.1 mm; comparándose con el control positivo (clorhexidina), con cifra de 14.23 mm.

CONCLUSIONES

Fue posible identificar grupos químicos en los extractos vegetales obtenidos, presentaron acción antimicrobiana favorable. Constituyen una alternativa para continuar estudiando y valorando su aplicación en el tratamiento contra patógenos orales y posibilitar ser incorporados como parte del tratamiento clínico diario y diseñar alternativas para aminorar la incidencia de enfermedades orales.

BIBLIOGRAFÍA

1. Loesche, W J. 1986. "Role of Streptococcus Mutans in Human Dental Decay." *Microbiological Reviews* 50 (4): 353–80. doi:10.1039/b801747f.
2. Rzedowski, Jerzy. 2016. "Un Siglo de La Botánica En México." *Botanical Sciences*, no. 40(December): 1. doi:10.17129/botsci.1183.
3. Agreda, M., Simancas, Y, Salas, M. E., Díaz, N., & Romero, Y. Prevalencia y experiencia de caries en niños en edad escolar. *Acta Bioclínica*, 2014;4(7):50-65.
4. Fuente Hernández De la J, González de Cossío M, Ortega Maldonado M, Sifuentes-Valenzuela MC. Caries y pérdida dental en estudiantes preuniversitarios mexicanos. *Salud pública Méx.* 2008;50(3):235-240.
5. Struzycka I. The oral microbiome in dental caries. *Pol J Microbiol.* 2014;63(2):127-35.
6. Kalesinskas P, Kačergius T, Ambrozaitis A, Pečiulienė V, Ericson D. Reducing dental plaque formation and caries development. A review of current methods and implications for novel pharmaceuticals. *Stomatologija.* 2014;16(2):44-52.
7. Dreser A, Wirtz VJ, Corbett KK, Echeniz G. Uso de antibióticos en México: revisión de problemas y políticas. *Salud pública Méx.* 2008;50(4):S480-S487.
8. Sohraabi-Araghi, Kh, K Ashofte-Yazdi, and K. Iran-Parvar. 2012. "In Vitro Comparison of Antimicrobial Effect of Three Intracanal Irrigants and Diode Laser on Canals Infected with Enterococcus Faecalis." *Medicina Oral Patología Oral Y Cirugía Bucal* 6 (1): S16–. doi:10.4317/medoral.17643515.
9. Abdallah, E. 2016. "Antibacterial Properties of Leaf Extracts of Moringa Oleifera Lam. Growing in Sudan." *Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences* 5 (1): 1–5. doi:10.9734/JAMPS/2016/21386.
10. Juteau, Fabien, Igor Jerkovic, Véronique Masotti, Mladen Milos, Josip Mastelic, Jean-Marie Bessière, and Josette Viano. 2003. "Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Artemisia Absinthium* from Croatia and France." *Planta Medica* 69 (2): 158–61. doi:10.1055/s-2003-37714.
11. R, Maiti, Para AC, and Rodriguez HG. 2015. "Characterization of Wood Fibres of Scrubs and Tree Species of the Tamaulipan Thornscrub, Northeastern Mexico and Its Possible Utilization." *Forest Research: Open Access* 4 (4). doi:10.4172/2168-9776.1000154.

PLOMO VS MERCURIO: ESTRÉS OXIDATIVO Y GST.

Leticia Guadalupe Navarro Moreno, David Cruz Victoriano, Jorge Conde Acevedo, Aurelio Ramírez Hernández.

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

La contaminación ambiental genera problemas ecológicos debido a la alta mortandad que ocasiona en prácticamente todas las especies que conforman el medioambiente. Lo anterior desencadena serios desequilibrios celulares los cuales han ido alterando los diferentes tipos de vida existentes en el planeta. Los metales pesados constituyen contaminantes tóxicos para los seres vivos debido que éstos no tienen una función fisiológica dentro de los diferentes tipos de células que generan la biodiversidad del planeta. Dos de estos metales han sido estudiados debido a su alta peligrosidad. El plomo ocasiona daños a largo plazo, mientras que el mercurio los genera de forma muy rápida. Ambos dañan el sistema renal y han sido estudiados de manera exhaustiva. En nuestro laboratorio hemos encontrado que las manifestaciones de los daños renales causados por estos metales pueden ser revertidas utilizando micronutrientes, antioxidantes y un agente quelante. Uno de los daños ocasionados por ambos metales es el aumento de las especies reactivas de oxígeno y la inhibición de algunas enzimas del sistema antioxidante, de manera tal que estos metales pueden ser precursores de enfermedades cerebrales, hepáticas y renales. Se han realizado varios esquemas de tratamiento en roedores expuestos a plomo o a mercurio y se ha observado que los micronutrientes y el agente quelante han logrado disminuir la generación de EROS en riñón por lo cual los daños fisiológicos en este órgano también disminuyeron. La acción de los antioxidantes naturales externos varía dependiendo de la técnica de procesamiento; la vía de exposición y el tiempo de exposición. La actividad de GST se utilizó como un marcador de efecto por la intoxicación.

INTRODUCCIÓN

La creciente contaminación ambiental ha originado fenómenos de intoxicación y resistencia en los diversos organismos que integran el medioambiente. Cuando un organismo se enfrenta a algún agente tóxico tiene dos opciones de comportamiento, la primera es no resistir y perecer y la otra es adaptarse y evolucionar.

Para los microorganismos lo anterior se convierte en un proceso que la mayoría de ellas puede lograr debido a que cuentan con mecanismos codificados en plásmidos y que les permiten expresar procesos por medio de los cuales podrán eliminar, metabolizar o secuestrar al xenobiótico. Muchos son los mecanismos de resistencia de bacterias, hongos, levaduras y protozoarios de los que se conocen los mecanismos de resistencia a agentes tóxicos como los metales pesados.

En el caso de los organismos más grandes como animales, plantas y humanos no existen los mecanismos que las bacterias presentan y por ello su proceso de adaptación se ve complicado y por lo general el proceso de intoxicación resulta más rápido que el proceso de adaptación.

Sin embargo, la célula a través de los tiempos ha desarrollado una serie de procesos controlados por medio de los cuales establece procesos de defensa contra los agentes tóxicos. La mayoría de las células de los organismos aerobios poseen un sistema complejo (que varía de especie en especie) que comparte componentes enzimáticos para defenderse de los procesos de invasión de

agentes tóxicos externos y de la eliminación de agentes tóxicos internos. Este proceso se conoce como metabolismo de los xenobióticos.

El metabolismo de los xenobióticos se compone de dos fases. La primera se encarga de convertir a los agentes tóxicos en compuestos hidrofílicos con la capacidad de unión a diversos ligantes que al final de cuentas serán los encargados de eliminarlos de los organismos. La fase I se caracteriza por la acción de un complejo enzimático conocido como Citocromo P450, el cual mediante una serie de reacciones de oxidasas y monooxigenasas los compuestos tóxicos son metabolizados a compuestos solubles en agua. Estos compuestos entran a una segunda fase la cual consiste en reacciones de conjugación entre los compuestos anteriores y una serie de moléculas que pueden unirlos bajo la acción de algunas enzimas como la Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa y la Glutación S-transferasa. La segunda enzima ha sido objeto de muchos estudios debido a la importancia que ha adquirido a nivel celular en varios procesos metabólicos y dentro de la clínica. Algunos autores han relacionado la actividad de esta enzima con procesos tóxicos celulares debidos a compuestos endógenos como exógenos.

Por otro lado, dentro del fenómeno de la contaminación ambiental se ha reconocido que los metales pesados constituyen un grave problema debido a que muchos de ellos tienen la capacidad de desplazar varios micronutrientes o a bloquear sitios esenciales en enzimas blanco. Lo anterior origina daños celulares que generan fallas mayores mismas que se reflejan en los organismos como daños a la salud.

La Organización Mundial de la Salud ha designado al plomo como un problema mundial de salud debido a que la consecuencia de su entrada a diversos seres vivos ha ocasionado una serie de fenómenos toxicológicos que se han agravado por no ser una enfermedad clínicamente diagnosticada. En las plantas y organismos fotosintéticos ocasiona la inhibición de algunas fases del sistema de transporte de electrones, en microorganismos causa el desarrollo de mecanismos de tolerancia y en mamíferos es capaz de alterar el funcionamiento de la mayoría de sus órganos.

El mercurio constituye otro elemento que provoca daños a la mayoría de los seres vivos, es un elemento mucho más tóxico que el plomo debido a que sus efectos se llevan a cabo a concentraciones menores que las del plomo. Sus efectos se producen de manera similar a los del plomo y hace algunas décadas ocasionó un desastre en Japón debido a que la población consumió pescado contaminado con el metal.

En el presente trabajo se mostrarán los resultados obtenidos al estudiar el efecto de la intoxicación con plomo y con mercurio en riñones de roedores intoxicados vía intraperitoneal bajo un esquema agudo.

ANTECEDENTES.

El plomo y el mercurio constituyen elementos que se caracterizan por ser metales neurotóxicos. Ambos pueden entrar a las células renales por medio de algunos transportadores o algunos procesos membranales. Ambos dañan preferentemente a las células de túbulo contorneado proximal en donde provocan daños a nivel molecular o por estrés oxidativo.

PLOMO.

El plomo es un elemento normal en la naturaleza, cuyo uso en la industria se ha incrementado. El plomo ha sido empleado como ingrediente de pigmentos para pinturas, barnices, cerámica, vasos, incluso se le ha utilizado para producir plásticos y artículos de goma, baterías, medicamentos naturistas, drogas ilícitas, gasolina, soldadura de latas de alimentos, etcétera. En México, una de las fuentes principales de plomo proviene del barro vidriado, el cual es empleado para cocinar, almacenar y servir alimentos. Se ha observado que el tipo de barro, alimento, acidez y el tiempo de contacto participan en la cantidad de plomo eliminado por dichos utensilios; por otra parte, las ollas

viejas eliminan con mayor facilidad el barniz, el cual contiene grandes cantidades de plomo. Otra fuente importante de plomo es la pintura de las casas viejas, ya que antes de 1955 la pintura blanca para casas contenía un 50% de plomo, en 1971 un 1% y para 1977 un 0.06% de este elemento. Se han realizado estudios en los que se ha determinado que el agua proveniente de tuberías y soldaduras viejas contiene concentraciones mayores de 20 µg/dL, por lo que se considera una fuente importante para la intoxicación por plomo¹.

Debido a lo anterior en todo el mundo se han efectuado diversos estudios en los que se ha medido la cantidad de plomo en sangre. Uno de los primeros trabajos fue el realizado por Goldwater y Hoover en 1967, en el cual se estimó una concentración de 18 + 11 µg/dL. En 1985, se realizó un estudio en población infantil de los Estados Unidos y se encontraron niveles séricos de plomo promedio de 30 µg/dL. En investigaciones más recientes se han encontrado concentraciones de 4-6 µg/dL¹.

En México, se realizó un estudio entre 1991 y 1993, en el que fueron analizados 113 pacientes de tres a siete años; las concentraciones séricas de plomo encontradas oscilaron entre 4 y 45 µg/dL con una media de 15.6 µg/dL; un 76% de los pacientes tenían concentraciones mayores de 10 µg/dL. En 1993, los datos del programa de vigilancia epidemiológica del binomio madre-hijo que se llevó a cabo en nueve hospitales del Distrito Federal con sangre del cordón umbilical reportaron que un 48% de las madres y un 44% de los hijos tenían concentraciones mayores de 10 µg/dL². En otro estudio realizado en el Distrito Federal se determinó que entre los principales factores de exposición que predicen las concentraciones de plomo se encuentran en edad de entre seis y ocho años, ocupación de la madre, uso de cerámica vidriada, proximidad a talleres donde se usan sustancias con plomo y escolaridad de segundo de primaria³.

El organismo absorbe el plomo inorgánico por las vías respiratoria y gastrointestinal. El plomo orgánico también se absorbe por piel. La vía más importante desde el punto de vista ocupacional es la respiratoria. La sangre transporta el plomo hacia todo el cuerpo y lo deposita en los tejidos de acuerdo a una gradiente de concentración y a la afinidad específica de cada órgano. En el organismo, al plomo se le encuentra en equilibrio dinámico con una cinética compleja. La concentración de plomo en sangre o tejidos en un momento dado resulta de una función multivariable determinada por su absorción, excreción y otros parámetros fisiológicos, como su traslado dinámico de y hacia los tejidos. Efectos toxicológicos importantes de la acción del plomo en el organismo humano son: 1) Atravesar la barrera placentaria: el plomo comienza a ser detectado en el feto entre las 12 y 14 semanas de gestación, incrementándose conforme avanza su maduración. La distribución corporal en el feto es similar al adulto. 2) En madres expuestas, aumento de abortos espontáneos y aumento de morbimortalidad perinatal. 3) En exposición paterna, hipospermia e incremento de abortos en su pareja. 4) Atravesar la barrera hematoencefálica. 5) Experimentalmente producir cáncer en animales (categoría A3 ACGIH). Estudios epidemiológicos en humanos han encontrado aumento significativo de varios tipos de cáncer (estómago, pulmón y vejiga), pero aún no hay nada definitivo respecto a eventuales acciones cancerígenas o mutagénicas del plomo en el hombre⁴.

Actualmente, se sabe que el plomo está presente en el cuerpo en por lo menos cuatro compartimentos: 1) Compartimiento de intercambio rápido: sangre; 2) Compartimiento de recambio medio: piel, órganos internos blandos y músculos; 3) Compartimiento de recambio lento, representado por la fracción intercambiable de plomo de huesos planos y diáfisis de huesos largos; y, 4) Compartimiento de recambio muy lento: extremos de huesos largos. Como vemos, el plomo requiere de un modelo metabólico muy complejo que explique la cinética de la excreción⁵.

Uno de los órganos afectados por la exposición del plomo es el riñón⁶. Este entra a las células renales por procesos utilizados por otros iones como el calcio o el intercambiador de cloruros. Se ha propuesto, también, que el plomo puede entrar a la célula por el transportador de cationes divalentes⁷. Una vez en el interior celular, el plomo divalente podrá actuar de dos maneras diferentes. La primera podría ser de forma directa esto es intercambiando con macromoléculas cargadas negativamente como lípidos, carbohidratos, proteínas y ácidos nucleicos generando

alteraciones estructurales o mutaciones que alteran el metabolismo general de la célula. La segunda vía de toxicidad de la exposición al plomo ha sido reportada recientemente por algunos grupos de investigación. En ella se ha propuesto, y en algunos casos comprobados, que el plomo puede generar estrés oxidativo al generar o aumentar, de alguna manera la formación de especies reactivas de oxígeno, las cuales ocasionan alteraciones celulares como la oxidación de macromoléculas, lo cual como consecuencia genera fenómenos de muerte celular y cáncer⁶.

MERCURIO.

Las emisiones de mercurio a partir del humo de carbón son la principal fuente de descarga antropogénica y de contaminación por mercurio en la atmósfera. Se estima que las emisiones de mercurio aumentarán a un ritmo del 5% anual⁸. El mercurio en el aire con el tiempo pasa a los ríos, lagos y océanos después de viajar largas distancias junto con el viento para finalmente tener contacto con los seres vivos⁹. También puede contaminarse el agua, los alimentos, los productos farmacéuticos y los cosméticos. Lo anterior plantea serias preocupaciones ya que el metal persiste en el medio ambiente y se acumula en la cadena alimenticia, tal como se aprecia en la figura 2. En ella podemos observar tanto los medios y las interacciones en donde se encuentra el mercurio. A lo anterior se le conoce como ciclo del mercurio en el medio ambiente. De las formas de mercurio existentes, la orgánica resulta la más tóxica para los seres vivos debido a su solubilidad en lípidos. Investigaciones recientes han demostrado la existencia de efectos adversos para la salud a dosis bajas de metilmercurio¹⁰.

DAÑO OXIDATIVO OCASIONADO POR METALES PESADOS.

Se sabe que uno de los daños más severos que puede enfrentar la célula es el oxidativo. Este se produce por el desequilibrio que se establece entre los sistemas antioxidantes celulares y la generación de especies reactivas de oxígeno. Este desequilibrio se produce por varios factores como la edad, algunas enfermedades y por casos de intoxicación con xenobióticos tanto intracelulares como extracelulares. Estos factores afectan el funcionamiento de las enzimas antioxidantes y como consecuencia las especies reactivas de oxígeno aumentan y ocasionan daños a nivel macromoléculas como lípidos, proteínas y ácido desoxirribonucleico.

Se sabe que tanto el plomo como el mercurio pueden ocasionar daño oxidativo en las células de túbulo contorneado proximal. Sin embargo, la célula no se mantiene estática frente a estos fenómenos, ya que cuenta en su interior con una serie de mecanismos que la ayudan a contrarrestar el daño por la exposición a estos metales. El sistema de defensa antioxidante endógeno se encuentra constituido por enzimas cuya función se relaciona con la disminución o atenuación de la generación de EROS. Entre ellas se encuentran las catalasas, la peroxidasa, la superóxido dismutasa y las enzimas que dependen de glutatión: glutatión peroxidasa, glutatión reductasa y glutatión sulfhidrilo transferasa. La última será la enzima que será objeto de estudio de este trabajo³.

GLUTATION S-TRANSFERASA

La Glutatión S-transferasa (GST) pertenece a una familia de enzimas de gran importancia en mecanismos de desintoxicación celular, eliminando xenobióticos o sustancias nocivas para las células. Estas enzimas catalizan el ataque nucleofílico del sustrato fisiológico, glutatión reducido ó GSH (g-Glu-Cys-Gly) sobre el centro electrófilo de un gran número de estructuras tóxicas. En mamíferos estas isoenzimas (GSTs) existen como homodímeros o como heterodímeros, tienen una masa molecular de aproximadamente 25 kDa por subunidad y un sitio activo por monómero. Se clasifican en siete familias (alpha, kappa, mu, pi, sigma, theta y zeta) que se diferencian tanto en su secuencia, propiedades inmunológicas y papel fisiológico¹¹.

La GST ha sido estudiada desde hace más de 40 años. Los estudios incluyen la purificación de la enzima, el análisis de aminoácidos y el estudio de la actividad enzimática con diferentes sustratos.

Como consecuencia de estas investigaciones se sabe que esta enzima cuenta con 18 de los 20 aminoácidos conocidos y que presenta actividad con sustratos electrofílicos como el 1-cloro-2,4-dinitrobenzoceno (DNCB), el cloruro de *p*-nitrobenzocilo, y el iodometano, entre otros¹². También, se han evaluado los mecanismos de reacción, estructura y función de la enzima, observando que ésta cataliza reacciones de sustitución nucleofílica aromática y apertura de anillos de epóxidos¹³. Se ha ensayado su relación con órganos dañados, proponiendo que la actividad de la enzima puede ser indicador de daño en órganos¹⁶. Desde hace 10 años aproximadamente, la GST ha sido comparada con otros biomarcadores de daño renal, ya que, durante este proceso, la enzima se encuentra presente en la orina indicando posiblemente nefrotoxicidad por fármacos¹⁴.

Se han reportado trabajos de estudios *in vitro* sobre la actividad de la GST y su inhibición con mercurio. Se ha observado que al aumentar la concentración de glutatión reducido (ligante de la enzima GST) o al añadir cisteína al sistema, se puede disminuir la inhibición de la actividad de la enzima. La unión de mercurio a la Glutatión S-transferasa puede estar influenciada por muchos factores, incluyendo la disponibilidad de glutatión reducido y el estado de oxidación del mercurio, la dosis, la exposición frente a otros compuestos reactivos con el grupo funcional tiol (-SH), y la funcionalidad general de la Glutatión S-transferasa. Mientras el mercurio reacciona espontáneamente con el GSH intracelular, la GST también puede ayudar en el proceso de desintoxicación del metal a través de la catálisis de la reacción de unión al GSH y el transporte del conjugado de forma temporal previniendo la inhibición de la actividad de otras proteínas clave intracelulares como la Super óxido dismutasa y la Catalasa¹⁵.

Se ha reportado que la Glutatión S-transferasa citosólica podría ser un biomarcador de daño en hígado y riñón por mostrar una localización regio-específica de las diferentes isoformas. En humanos, la clase alfa (α GST), es la isoforma predominante en el hígado. La distribución uniforme junto con niveles hepáticos relativamente altos y una corta vida media en el plasma (90 minutos), la convierte en una enzima más sensible (aún más que las aminotransferasas) y un posible indicador del estado de los hepatocitos. Una distribución similar regio-específica única de la Glutatión S-transferasa alfa (α GST) y la Glutatión S-transferasa pi (π GST) ocurre en los riñones donde varios estudios en muestras de orina, han demostrado que estas enzimas indican daño específico en el túbulo proximal o distal por fármacos¹⁶.

La cuantificación tanto de la Glutatión S-transferasa alfa como de la Glutatión S-transferasa pi, se puede utilizar como biomarcador sensible y relativamente simple para la detección temprana de efectos tóxicos que puedan afectar el sistema tubular renal. Por ejemplo, en estudios tanto en humanos como en animales, los niveles de la Glutatión S-transferasa alfa en orina se han correlacionado estrechamente con la dosis de varias toxinas como fármacos y drogas (Finn, 2008). En el cerebro, la GST tiene un papel importante en la detoxificación de neurotoxinas como la acrilamida, la colchicina, el cloranfenicol y el óxido nítrico entre otros. También se le ha encontrado una relación entre los gliomas y tumores en el cerebro y la expresión de diferentes isoformas de la enzima^{17,18}.

PARTE EXPERIMENTAL.

Para llevar a cabo el trabajo experimental se formaron grupos de ratas Wistar macho de 200 gramos de peso promedio y se colocaron en jaulas en donde se les alimentó con comida especial para roedores, se les dio de tomar agua purificada y fueron sometidos a ciclos de luz-oscuridad de 12 horas cada uno. Fueron divididos de la siguiente manera.

Grupo control. Tratado como se indica en la parte anterior y sin aplicar ningún tratamiento.

Grupo expuesto a plomo. Los animales fueron intoxicados empleando una serie de siete inyecciones intraperitoneales de acetato de plomo en una relación de 25 miligramos (mg) por kilogramo (Kg) de peso del animal. El periodo de intoxicación fue de quince días.

Grupo expuesto a mercurio. Los animales fueron intoxicados con cloruro de mercurio vía oral con una dosis de 2.5 mg por kilogramo de peso por un periodo de 15 días.

Una vez terminados los esquemas de intoxicación se procedió a colocar a las ratas en jaulas metabólicas para llevar a cabo la colecta de la muestra de orina de 24 horas. Después de ello, los animales fueron sacrificados usando pentobarbital sódico a una razón de 1 ml por kg de peso, vía intraperitoneal. Los animales fueron sacrificados y los órganos cerebro, hígado y riñón fueron recolectados, limpiados y lavados con un amortiguador de fosfatos (PBS) 0.1 M pH 7.0 y guardados a -24 grados C hasta el momento de usarse.

Se determinó la cantidad de proteína total por el método de Lowry utilizando un estándar de albúmina sérica bovina para realizar la curva de calibración.

Se midió la actividad de la enzima Glutación S-transferasa mediante el método estándar usando como sustrato al compuesto 2,4-dinitroclorobenceno, al ligante glutación reducido. La actividad fue medida en un amortiguador de fosfatos 0.1 M a pH de 6.5 por un tiempo de cinco minutos a 350 nm en un UV/VIS.

Se cuantificaron las especies reactivas de oxígeno mediante la reacción con ácido tiobarbitúrico poniendo a reaccionar las muestras en un baño María por 15 minutos y leyendo la absorbancia a las longitudes de onda de 532 y 600 nm.

Se llevó a cabo un examen general de orina usando tiras reactivas comerciales.

RESULTADOS

Los animales intoxicados con plomo mostraron alteraciones fisiológicas al ser tratados con el metal. Estas incluyeron caída del pelaje, diarrea, disminución del apetito, pérdida de peso y aparente estado de estrés (denotado por la alteración de sus cabellos). Los animales expuestos a mercurio, al inicio los animales fueron tratados mediante un esquema de inyección intraperitoneal, pero los animales morían al cabo de tres días. Fue por ello que se optó por realizar la intoxicación vía oral, logrando la sobrevivencia del 100% de los animales, sin embargo, las alteraciones fisiológicas fueron similares a las encontradas con el grupo de animales expuestos a plomo. El peso fue uno de los más alterados en este grupo. La tabla 1 muestra los pesos iniciales y finales de los grupos experimentales, así como la ganancia o pérdida de peso de los mismos. Se observa que el plomo ocasiono la disminución del peso corporal de los animales y que el mercurio, al contrario, lo aumentó.

Tabla 1. Pesos corporales iniciales y finales de los grupos control y expuestos a metales.

Grupo	Peso inicial	Peso final	Diferencia de pesos
Control	167.55 ± 14.30	202.88 ± 23.40	35.33
Expuesto a plomo	181.00 ± 36.37	163.33 ± 40.25	-17.67
Control	190.70 ± 7.95	192.83 ± 19.28	2.13
Expuesto a mercurio	174.88 ± 9.77	196.16 ± 12.36	21.18

En relación con el efecto de los metales en el peso de los riñones, la tabla 2 muestra que en ambos a casos los metales ocasionaron un aumento de peso de los órganos debido posiblemente a un efecto osmótico o inflamatorio.

Tabla 2. Pesos de riñones de grupos control y expuestos a metales.

Grupo	Peso
Control	1.50 ± 0.13
Expuesto a plomo	2.48 ± 0.71
Control	1.91 ± 0.14
Expuesto a mercurio	2.68 ± 0.20

La exposición a ambos metales generó el aumento de especies reactivas de oxígeno. Sin embargo, el plomo es el metal que más desencadena este proceso debido posiblemente a que su modo de acción se focaliza en el sistema antioxidante disminuyendo la actividad de las enzimas encargadas de mantener el equilibrio de especies reactivas de oxígeno intracelulares. El mercurio genera especies reactivas de oxígeno, sin embargo, pareciera ser que su modo de acción es diferente al del plomo siendo más agresivo de forma intraperitoneal que oral.

La tabla 3 muestra los resultados obtenidos para ambos metales y comparados con los animales control. Para el caso del plomo se encontró un aumento de 4 unidades al comparar el grupo control (6.1 ± 1.23 pmol/mg) contra el expuesto al metal ($10,0 \pm 2.1$ pmol/mg). En el caso del mercurio el aumento fue de 6 unidades al comparar el grupo control (44.73 ± 6.18 pmol/mg) con el expuesto (50.66 ± 6.21 pmol/mg).

La actividad de la enzima GST fue medida tanto en riñón como en orina y suero de los animales intoxicados. Lo anterior debido a la relación que existe entre los fluidos mencionados y el riñón. En el caso del plomo los valores encontrados para los animales no expuestos y los expuestos al metal fueron 1.91 ± 0.18 y 3.03 ± 0.81 umol/mg/min respectivamente, lo que representa un aumento de 1.12 unidades de actividad. En el caso del mercurio el aumento fue de 1.54 veces. Lo anterior indica que ambos metales aumentan la actividad de la enzima de manera semejante. La tabla o figura 1 muestra los datos obtenidos.

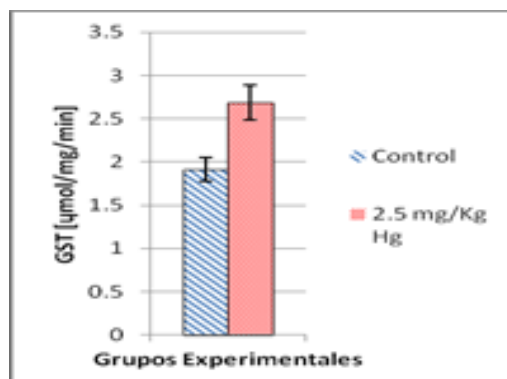


Figura 1. Actividad de GST en animales control y expuestos a mercurio.

El examen general de orina reveló que los animales expuestos a plomo y a mercurio presentan alteraciones renales al estar expuestos a cada uno de los metales. Los resultados indican que tanto el plomo como el mercurio ocasionaron proteinuria y alteración en los valores de pH pero sin llegar a ocasionar glucosuria o presencia de sangre en orina. La tabla 3 muestra los resultados obtenidos

Tabla 3. Examen general de orina de animales control y tratados con metales.

Grupos	Glucosa (mg/dL)	Sangre	Proteínas (mg/dL)	pH	Leucocitos
Control.	(-)	(-)	(-)	8.5	(-)
Expuestas a plomo.	(-)	(- ~ trazas)	(30 ~ 300)	(6.5 ~ 8.5)	(-)
Control	(-)	(-)	(-)	8.5	(-)
Expuestos a mercurio	(-)	(-)	(0 ~ 300)	(6 ~ 7.5)	Trazas

CONCLUSIONES

La contaminación ambiental genera estados metabólicos que tienden a contrarrestar los efectos de los agentes tóxicos en las células. Si estos procesos no existieran, los diferentes organismos no podrían desarrollarse y morirían al primer contacto. Los microorganismos son los seres que más rápido pueden adaptarse a los cambios estresantes que generan los xenobióticos. Al contrario, los humanos y otros organismos superiores no poseen un sistema de adaptación basado en plásmidos (como lo tienen los microorganismos) si no que cuentan con sistemas enzimáticos que los ayudan a contrarrestar o a combatir los efectos de los agentes extraños.

En el riñón dos elementos que ocasionan daños graves son el plomo y el mercurio. Estos elementos pueden ocasionar nefrotoxicidad y también pueden desencadenar problemas muy fuertes en personas intoxicadas hasta llevarlos a procesos de diálisis por daño renal.

La enzima GST aumenta de actividad en modelos animales expuestos a plomo y a mercurio, lo que puede reflejar un daño a nivel renal. Cuando se analizan los datos obtenidos se puede observar que en el caso del mercurio los daños son tan graves que los animales no soportan una intoxicación tipo intraperitoneal, el peso corporal aumenta al igual que el peso de los riñones (reflejando, posiblemente un proceso de inflamación o un proceso osmótico) el nivel de especies reactivas de oxígeno aumenta y la actividad de GST también se ve aumentada. De manera adicional se detecta proteinuria (reflejando un problema glomerular) y variación en el pH (reflejando un problema tubular). En el caso del plomo, los animales disminuyen de peso drásticamente, los niveles de EROs aumentan al igual que la actividad de GST y existen problemas tubulares y glomerulares. Sin embargo, las ratas expuestas a plomo son más capaces de tolerar la exposición a este metal que al anterior. Se deben de realizar más estudios para comprender la forma de actuar de cada metal; esto es importante debido a que de esa manera se podrá entender el fenómeno y así se podrán establecer algunas terapias o tratamientos de ayuda.

BIBLIOGRAFÍA

1. R. A. Lesvia Margarita, "Daño neurológico secundario a la intoxicación por plomo en niños", Monografía. Centro de Salud Urbano No 2. Servicios de Salud de Oaxaca, 2011, pp. 1-4
2. C. Jiménez, I. Ramírez, "Factores de exposición ambiental y concentraciones de plomo en sangre en niños de la Ciudad de México", Sal. Pub. Mex, Vol 32, 1993, pp. 6
3. R. Ferreira, "Estrés oxidativo y antioxidativo: de las ciencias básicas a la medicina aplicada", Hospital Militar Central, 1998.
4. M.V. I Melinda, "Intoxicación por plomo", Rev. Soc. Per.Ned. Inter, Vol 18,1, 2005, pp. 22-27.

5. R. V. Augusto, "El cuadro clínico de la intoxicación ocupacional por plomo", *Anales de la Facultad de Medicina*, Vol 66, 1, 2005, pp. 57-70.
6. P. A. Poma, "Intoxicación por plomo en humanos", *An Fac Med*, Vol. 69,2, 2008, pp.120-6
7. M. E. Markowitz, "Manejo de la intoxicación por plomo en la niñez", *Salud Pública de México*, Vol 45, 2, 2003, pp. 225-231.
8. M. Ahamed, M. K. J. Siddiqui, "Low level exposure and oxidative stress, *Current Opinions, Clínica Chimica Acta*, Vol. 383, 2007, pp. 57-64.
9. E. C. Santiago, "Jornada sobre el impacto ambiental del mercurio utilizado por la minería aurífera artesanal en Iberoamérica", 2001
10. Z. Farhana, J. Shamim, K. Soghora, "Low dose mercury toxicity and human health.", Vol 20, 2005, pp. 351-360.
11. H. F. Wang, T. C. Lee, "Glutathione S-transferase pi facilitates the excretion of arsenic from arsenic-resistant Chinese hamster ovary cells", *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, Vol. 192, 1993, pp. 1093-1099.
12. W. H. Habig, M. J. Pabs, W. B. Jackoby, "Glutathione S-Transferases: THE FIRST ENZYMATIC STEP IN MERCAPTURIC ACID FORMATION", *Journal of Biological Chemistry*, Vol 249, 22. 1974, pp. 7130-7139.
13. R. N. Armstrong, "Glutathione S-transferase: reaction mechanism, structure, and function", *Chemical Research in Toxicology*, Vol 4, 2, pp. 131-140.
14. R. L. Rouse, J. Zhang, S. R. Stewart, B. A. Rosenzweig, P. Espandiari, N. K. Sadrieh, "Comparative profile of commercially available urinary biomarkers in preclinical drug-induced kidney injury and recovery in rats", *Kidney International*, Vol. 79, 11, 2011, pp. 1186-1197.
15. J. M. Goodrich, N. Basu, "Variants of glutathione s-transferase pi 1 exhibit differential enzymatic activity and inhibition by heavy metals." *Toxicology in Vitro*, Vol 26, 4, 2012, pp. 630-635.
16. C. S. Kilty, B. Doyle, F. Manning, "Glutathione S-transferases as biomarkers of organ damage: applications of rodent and canine GST enzyme immunoassays", *Chemico-Biological Interactions*, Vol. 111-112, pp. 123-135.
17. M. Das Dixit R. Dixit, "Glutathione S-Transferase Activity in the Brain: Species, Sex, Regional, and Age Differences", *Journal of Neurochemistry* Vol. 36, 4, pp. 1439-1442.
18. M. Wrensch, K. T. Kelsey, "Glutathione S-Transferase Variants and Adult Glioma", *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, Vol. 13, 3, pp. 461-467

ESTUDIO DE LOS PARAMETROS QUE AFECTAN LA RESISTENCIA ELÉCTRICA DE LOS MATERIALES DE GRAFITO OBTENIDOS MEDIANTE SÍNTESIS ELECTROQUÍMICA.

Svetlana Kashina, Araceli Jacobo Azuara y Rosario Galindo

Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas, Departamento de Química
Cátedra CONACYT adscrita en la División de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Guanajuato.

RESUMEN

Los materiales de carbono micro- y nanoestructurados han tomado gran importancia en los últimos años, entre la comunidad científica 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 el área electroquímica, ya sea como material catalítico para celdas de combustible o bien en la detección de diferentes especies químicas, principalmente por su gran área superficial y alta conductividad eléctrica o capacidad de almacenamiento de carga. La forma bulk del grafito presenta una alta resistencia al paso de corriente eléctrica, pero al disminuir su tamaño, se mejora su conductividad. Por lo anterior nuestro grupo de trabajo se interesó en sintetizar nuevos materiales a partir de grafito mediante la síntesis electroquímica. El sistema consiste de dos barras de grafito como electrodos (cátodo y ánodo de sacrificio), inmersos en una solución 2M de KNO_3 como electrolito soporte, conectados a una fuente de poder. Los parámetros estudiados fueron: temperatura de solución 25, 50 y 80 °C, y distancia entre electrodos 1, 3, 4 y 5 cm. Los materiales obtenidos se evaluaron mediante técnicas electroquímicas en una celda convencional de tres electrodos. Las tintas preparadas de cada material fueron depositadas en la superficie del electrodo de carbón vítreo inmerso en buffer de fosfatos. Los resultados calculados a partir de los datos de impedancia eléctrica, obtenidos para cada material, muestran que los que fueron sintetizados a 80 °C y con distancia entre electrodos de 1 cm presentan menor resistencia, por lo tanto, tienen una mayor conductividad eléctrica.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, se ha despertado gran interés por parte de los científicos y de la industria, en los materiales en escala micro y nanométrica debido a sus propiedades únicas y la diversidad de aplicaciones.

El carbono surge como un elemento clave en el desarrollo de la ingeniería de materiales, la síntesis de varias de sus formas alotrópicas, las cuales tienen un enorme campo de aplicación, entre los que se pueden destacar: dispositivos electrónicos, sensores moleculares y biológicos y materiales adsorbentes. El grafito es una de las formas alotrópicas del carbono, que más ha generado interés en los últimos años; a partir de esta se han podido sintetizar formas nanométricas del carbono como son los nanotubos de carbono (NTC), fullerenos y grafeno [1].

Las propiedades de los nanomateriales a base de carbono se relacionan fuertemente a su estructura, es decir, se asocian con la presencia de capas conformadas por enlaces de átomos de carbono en la forma sp^2 , los cuales son los responsables de que este tipo de materiales presenten buenas propiedades conductoras eléctricas y la capacidad de almacenar carga. La estructura básica atómica de los materiales de carbono es también la responsable de formar enlaces de tipo Van der Waals, lo cual impide la solubilidad de este tipo de materiales en disolventes polares, sin embargo, la situación anterior puede resolverse fácilmente funcionalizando el material con grupos polares como los oxigenados, hidroxilos, fenoles, entre otros.

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 [2].

Los materiales de carbono nanoestructurados han tomado gran importancia en el área de la detección de los metales pesados debido a sus propiedades físico-químicas únicas, que permiten desarrollar sensores con alta sensibilidad, selectividad y reproducibilidad. Además, estos materiales pueden ser modificados con métodos químicos y enzimáticos, para mejorar su comportamiento eléctrico y selectividad. Por ejemplo, grafeno (forma nanométrica de grafito) modificado con otras especies químicas demostró 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].

Por lo anterior nuestro grupo de trabajo se interesó en sintetizar nuevos materiales a partir de grafito mediante la síntesis electroquímica, empleando las barras de grafito convencionales como materia prima.

De manera general el método consiste en aplicar voltaje a un ánodo de sacrificio, inmerso en una solución electrolítica. Está clasificado como método *top-down* – producción de las partículas de tamaño pequeño a partir de la forma bulk. Los métodos electroquímicos se han utilizado para la obtención de diferentes nanomateriales, por ejemplo, las nanopartículas magnéticas, a partir de barras metálicas de hierro, níquel u otro metal bivalente, para obtener nanopartículas metálicas de tamaño y forma específicos. La ventaja de utilizar esta ruta de síntesis se debe a que se realiza en condiciones de presión atmosférica y temperaturas que oscilan entre los 25 y 80°C. además de que el voltaje aplicado o la intensidad de corriente, actúan como agente reductor, en sustitución de las sustancias químicas empleadas normalmente, con lo que además se disminuye la formación de productos intermediarios durante el proceso [4].

PARTE EXPERIMENTAL

Para la síntesis de los materiales de carbono se implementó el sistema de dos barras de grafito como electrodos, inmersos en una solución 2M de KNO_3 como electrolito soporte. Los electrodos fueron conectados a una fuente de poder y al sistema se le aplico voltaje constante de 6V. Al aplicar voltaje, el ánodo empezó a descomponerse formando precipitado negro en el fondo de la celda. La síntesis se continuó hasta alcanzar la formación de la cantidad necesaria del precipitado (aproximadamente 2 h).

Se estudió la influencia de parámetros como temperatura y la distancia entre electrodos sobre las propiedades conductivas de los materiales obtenidos. Específicamente, los parámetros estudiados fueron: temperatura de solución 25, 50 y 80 °C, y distancia entre electrodos 1, 3, 4 y 5 cm.

Los materiales obtenidos se evaluaron mediante técnicas electroquímicas en un sistema convencional de tres electrodos en el búfer de fosfatos. Con los materiales obtenidos a cada una de las condiciones antes mencionadas, se prepararon tintas catalíticas para modificar la superficie de un electrodo. Las tintas fueron preparadas de cada material por separado utilizando alcohol isopropílico y nafion® en un baño de ultrasonido para favorecer la dispersión. La solución obtenida se depositó por *drop cast* sobre la superficie de un electrodo de carbón vítreo y se dejó evaporar a temperatura ambiente, siendo este el electrodo de trabajo del sistema electroquímico. Se utilizó un electrodo saturado de Calomel como electrodo de referencia y alambre de platino como electrodo auxiliar. Los datos de impedancia eléctrica fueron obtenidos con el equipo Bio-Logic® con el modelo en un intervalo de frecuencias de 5 mHz a 10 kHz. Los datos de resistencia fueron calculados mediante el software del mismo equipo EC-Lab®.

RESULTADOS

Los materiales obtenidos fueron nombrados como KNO₃-A-B, donde A es la temperatura de la síntesis y B es la distancia entre electrodos. Por ejemplo, KNO₃-25-3 es material obtenido a 25 °C y a 3 cm de distancia entre electrodos.

Todos los materiales tienen aspecto de polvo formado por láminas delgadas.

En la figura 1, a manera de ejemplo, se presentan las gráficas típicas obtenidas para uno de los materiales sintetizados. El espectro de impedancia muestra que los procesos en la superficie del electrodo están controlados por la difusión (Figura 1A). En la figura 1B se demuestra que al aumentar la frecuencia de la corriente aplicada se disminuye la resistividad de los materiales.

Respecto a la influencia de temperatura sobre la resistividad de los materiales resultantes, tres temperaturas 25, 50 y 80 °C fueron investigadas. A frecuencia de la corriente 60 Hz (frecuencia de corriente de uso doméstico e industrial), los materiales KNO₃-25-3, KNO₃-50-3 y KNO₃-80-3 presentaron resistencia de 389, 326 y 299 Ohm, respectivamente. Por lo tanto, la resistencia de materiales disminuyó al aumentar la temperatura de la síntesis. Esta disminución puede resultar debido a la formación de partículas de carbono más pequeñas a temperaturas más altas [3].

Los materiales KNO₃-80-1, KNO₃-80-3, KNO₃-80-4 y KNO₃-80-5 tienen resistencia de 147, 299, 375 y 439, respectivamente. La tendencia es que al disminuir la distancia entre electrodos la resistencia también se disminuye.

La tabla 1 presenta resumen de los datos de la resistencia, obtenidos para todos los materiales sintetizados.

Tabla 1. Los datos de la resistencia de los materiales.

Material	Resistencia a frecuencia de 60 Hz (Ohm)
KNO ₃ -25-3	389
KNO ₃ -50-3	326
KNO ₃ -80-3	299
KNO ₃ -80-1	147
KNO ₃ -80-4	375
KNO ₃ -80-5	439

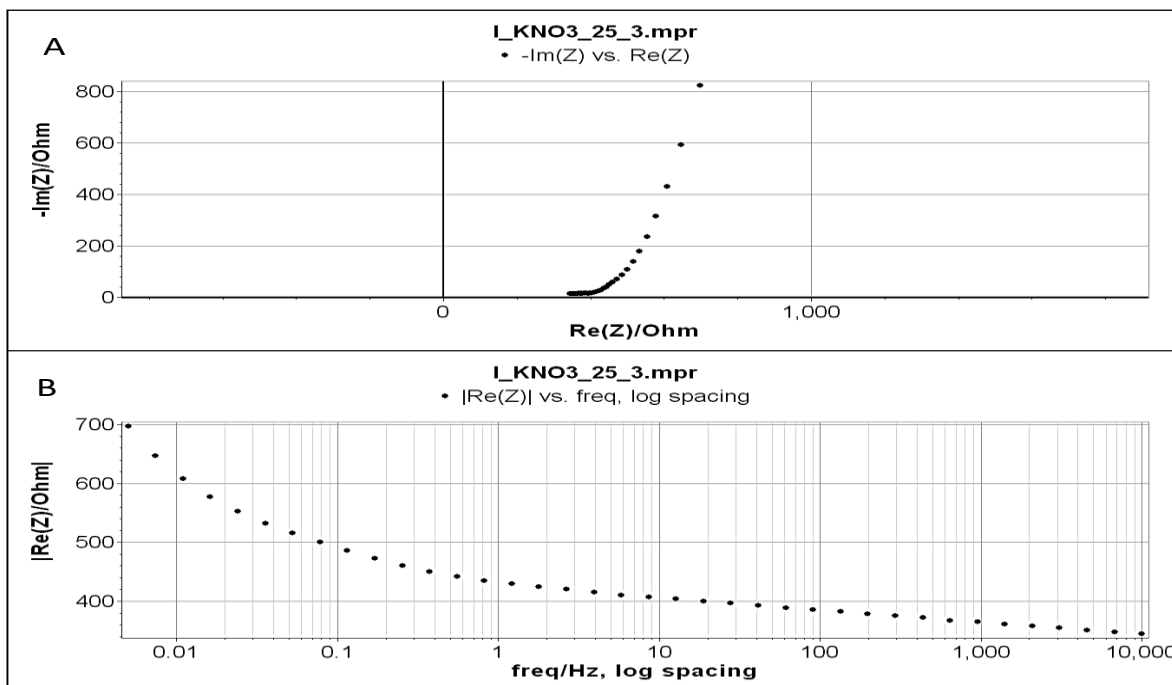


Figura 1. A) Impedancia de Nynquist para material KNO3-25-3; B) Grafica de la parte real de la impedancia vs frecuencia de la corriente aplicada obtenida para el material KNO3-25-3.

Respecto a la influencia de temperatura sobre la resistividad de los materiales resultantes, tres temperaturas 25, 50 y 80 °C fueron investigadas. A frecuencia de la corriente 60 Hz (frecuencia de corriente de uso doméstico y industrial), los materiales KNO3-25-3, KNO3-50-3 y KNO3-80-3 presentaron resistencia de 389, 326 y 299 Ohm, respectivamente. Por lo tanto, la resistencia de materiales disminuyo al aumentar la temperatura de la síntesis. Esta disminución puede resultar debido a la formación de partículas de carbono más pequeñas a temperaturas más altas [5].

Los materiales KNO3-80-1, KNO3-80-3, KNO3-80-4 y KNO3-80-5 tienen resistencia de 147, 299, 375 y 439, respectivamente. La tendencia es que al disminuir la distancia entre electrodos la resistencia también se disminuye.

La tabla 1 presenta resumen de los datos de la resistencia, obtenidos para todos materiales sintetizados.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos hasta el momento sugieren que el material de carbono sintetizado a 80 °C y con distancia entre electrodos de 1 cm presenta menor resistencia, por lo tanto, tiene una mayor conductividad eléctrica. Es necesario realiza otras pruebas electroquímicas para corroborar la conclusión.

BIBLIOGRAFÍA

1. Buzea, C., & Pacheco, I. (2017). Nanomaterials and their Classification. In EMR/ESR/EPR Spectroscopy for Characterization of Nanomaterials (pp. 3-45). Springer India.
2. Gogotsi, Y., & Presser, V. (Eds.). (2013). Carbon nanomaterials. CRC Press.

3. Pandey, S. K., Singh, P., Singh, J., Sachan, S., Srivastava, S., & Singh, S. K. (2016). Nanocarbon-based Electrochemical Detection of Heavy Metals. *Electroanalysis*, 28(10), 2472-2488.
4. Bhushan, B. (Ed.). (2010). *Springer handbook of nanotechnology*. Springer Science & Business Media.
5. Mazario, E., Morales, M. P., Galindo, R., Herrasti, P., & Menendez, N. (2012). Influence of the temperature in the electrochemical synthesis of cobalt ferrites nanoparticles. *Journal of Alloys and Compounds*, 536, S222-S225.

ANÁLISIS DE LA CAPACIDAD DE REMOCIÓN DEL IÓN SULFATO EMPLEANDO UNA MACRÓFITA ENDÉMICA DE LA CUENCA LA ESPERANZA EN EL ESTADO DE GUANAJUATO.

Francisco Camargo Preciado, Juan Carlos Baltazar Vera, Gladys Morales López, Gilberto Carreño Aguilera, Carolina Rodríguez Rodríguez, Roberto Ontiveros Ibarra, Cipactli Cuatlacupe Pérez Valadéz.

Departamento de Ingeniería en Minas, Metalurgia y Geología, Universidad de Guanajuato, Ex hacienda San Matías s/n, Guanajuato, Gto.

Departamento de Ingeniería Geomática e Hidráulica de la División de Ingenierías, Universidad de Guanajuato, Noria Alta s/n, Guanajuato, Gto.

Universidad Politécnica del Bicentenario, Carretera Estatal Silao-Romita Km. 2 Silao Gto.

RESUMEN

En varios casos la contaminación del agua de las zonas con actividad minera es causada por la presencia de especies iónicas solubles. En el caso de los drenajes mineros situados en las inmediaciones de la ciudad de Guanajuato, los sulfatos están presentes en concentraciones superiores a 3000 mg/L, por encima del máximo establecido de acuerdo con la norma correspondiente.

Es por eso que el desarrollo de técnicas que permiten la eliminación de esta especie es atractivo para la sociedad. El objetivo de este trabajo fue analizar la capacidad de remoción del ion sulfato mediante el uso de una macrófita endémica de la cuenca la Esperanza.

El análisis de la capacidad de eliminación de sulfato por la macrófita se llevó a cabo utilizando agua real proveniente de la comunidad Tajo de Adjuntas con una concentración de 2979 mg/L. Los resultados muestran que para concentraciones a partir de diluciones de esta agua el porcentaje de absorción es superior al 70 % después de 6 hrs de absorción. Del mismo modo el estudio se realizó para diferentes tiempos de contacto entre el efluente y la macrófita siendo: 10 min, 20 min, 30 min, 40 min, 50 min, 1hr, 2hr, 6hr, 12 hr, 24 hr, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días. Dando resultados mayor capacidad de eliminación en las primeras 6 horas y disminuyendo a medida que aumentaba el tiempo.

INTRODUCCIÓN

Los sulfatos se encuentran en las aguas naturales en un amplio intervalo de concentraciones. Las aguas de minas y los efluentes industriales contienen grandes cantidades de sulfatos provenientes de la oxidación de la pirita y del uso del ácido sulfúrico.

Los sulfatos de sodio, potasio, calcio o magnesio que ocurren en la naturaleza, algunas veces se encuentran en el suelo y otras disueltos en el agua adyacente a las estructuras de hormigón, entonces si las sales de sulfato en solución ingresan al hormigón atacan los materiales de cemento [1]. El ión sulfato contribuye a la salinidad en la mayoría de las aguas naturales. En la NOM-127-SSA1-1994, "Salud Ambiental, agua para uso y consumo humano" [2] se señala un límite máximo de sulfatos (como SO_4^-) de 400 mg/L, es por lo anterior que el desarrollar tecnologías que permitan la remoción de altas concentraciones de sulfatos en efluentes provenientes de drenajes mineros es de vital importancia.

Los sulfatos son especies iónicas comúnmente presentes en efluentes en contacto con sistemas conformacionales ricos en carbonatos y sulfuros, en este sentido a continuación se mencionan algunos efectos que provocan las altas concentraciones de sulfatos en el ambiente y en la salud:

- Cuando el sulfato del agua de pozo se acumula en las tuberías que entran en la casa, puede hacer que el agua tenga un sabor ligeramente desagradable y amargo.

- El sulfato, cuando es consumido por los seres humanos o los animales, puede causar diarrea. Provocando deshidratación que es especialmente mortal para los niños pequeños.
- Los sulfatos incrementan la acidez de la atmósfera, creando lluvia ácida.
- Los altos niveles de sulfato pueden también corroer tuberías, particularmente las de cobre.
- El sulfato en el agua de pozo puede ser transformado en sulfuro de hidrógeno (H_2S) por la varilla de anti-corrosión de magnesio en el calentador de agua de un hogar. También se forma el H_2S cuando las bacterias reducen los sulfatos. El H_2S es un gas incoloro con un fuerte olor fétido a huevos podridos. Este gas es extremadamente tóxico, particularmente para animales aerobios. Causa dolor de cabeza y náuseas en humanos en concentraciones > 10 mg/L y puede causar parálisis súbita y muerte cuando su concentración alcanza los 100 mg/L. El H_2S afecta el proceso de respiración celular [3].
- El drenaje de roca ácida (DRA) es un proceso natural a través del cual el ácido sulfúrico se produce cuando los sulfatos de las rocas son expuestos al aire libre o al agua. El ácido sulfúrico llega filtrándose al agua y degrada su calidad. Provoca alteraciones del ecosistema, la flora y la fauna pueden ser afectadas y los recursos hídricos pueden tornarse dañinos para el consumo humano o los propósitos agrícolas e industriales. También la infiltración del drenaje ácido de la mina puede contaminar suelos y el agua subterránea [4].

Las técnicas de fitorremediación se caracterizan por ser una práctica de limpieza pasiva y estéticamente agradable que aprovechan la capacidad de las plantas y la energía solar para el tratamiento de una gran variedad de contaminantes del medio ambiente [5]. En esta técnica las plantas actúan como trampas o filtros biológicos que descomponen los contaminantes y estabilizan las sustancias metálicas presentes en el suelo y agua al fijarlos en sus raíces y tallos, o metabolizándolos tal como lo hacen los microorganismos para finalmente convertirlos en compuestos menos peligrosos y más estables, como dióxido de carbono, agua y sales minerales [6].

PARTE EXPERIMENTAL

La macrófita se recolectó en la cuenca de la Esperanza, la zona de muestreo se muestra en la Figura 1.



Figura 1. Localización del área de recolección de la macrófita en la Cuenca de la Esperanza.
Latitud: $21^{\circ} 3'39.01''N$, Longitud: $101^{\circ} 13'37.65''O$, Altitud: 2414m.

La macrófita fue acondicionada en agua potable por espacio de una hora, lo anterior con la finalidad de evitar la saturación de la planta debido a la exposición natural que esta tiene con efluentes con altas cargas de ion sulfato propias de la cuenca La Esperanza, para el montaje de

los experimentos se acoplaron en recipientes de alrededor de 2 litros de capacidad donde se dispusieron los materiales de prueba.

La experimentación se llevó a cabo preparando soluciones a diversas concentraciones a partir de una solución real de la siguiente manera: 50 ppm, 100 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm y 2979.79 ppm. Estas disoluciones se vertieron en los recipientes antes descritos, la Figura 2 muestran los experimentos realizados en casos de estudio con y sin sustrato; como sustrato se empleó tezontle previamente caracterizado [7]. Se tomaron muestras a los siguientes tiempos: 10 min, 20 min, 30 min, 40 min, 50 min, 1hr, 2hr, 6hr, 12 hr, 24 hr, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, lo anterior con la finalidad de analizar la cantidad de sulfato removido.



Figura 2. Montaje de los sistemas de remoción de sulfato a partir de la macrofitas con y sin sustrato.

La cuantificación de sulfatos se realizó en un espectrofotómetro marca Perkin Elmer Lambda 35 UV/Vis Spectrometer con doble az. La curva de calibración se obtuvo con cinco concentraciones 5, 10, 15, 20, 25, 30 ppm de sulfato de calcio (CaSO_4) como solución patrón.

Antes de analizar las muestras fue necesario acondicionarlas con:

- 1) Solución de cloruro de sodio (NaCl)/ácido clorhídrico (HCl), la cual se preparó con 30g de NaCl + 100 mL de $\text{H}_2\text{O}_{\text{dest.}}$ + 2.5 mL de $\text{HCl}_{\text{conc.}}$, posteriormente se diluyó con agua destilada hasta 125 mL.
- 2) Solución de glicerina-etanol (1:2).
- 3) Adición de cloruro de bario (BaCl)

A cada muestra de 10 mL y a un blanco que se utiliza para ajustar el cero de absorbancia en el instrumento, se les adicionaron los reactivos antes mencionados de la siguiente manera:

5ml de reactivo NaCl/HCl + 10ml de la mezcla glicerina/etanol + 0.15g de BaCl

Posteriormente cada muestra se diluyó con agua destilada hasta un volumen de 50 mL y se agitó durante un minuto. Transcurridos cinco minutos (controlados con un cronómetro) desde la adición del cloruro de bario, se procedió a medir las absorbancias de las muestras y de los distintos patrones para obtener la curva de calibrado y la concentración de sulfatos en las muestras.

La muestra debe ser incolora y perfectamente transparente, ya que la existencia de coloración o turbidez puede provocar errores. Si es necesario, debe filtrarse antes de la lectura de absorbancia.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se muestran los resultados de la absorción de sulfato por medio de la macrófita con respecto al tiempo al emplear sustrato (Tezontle), en los datos se puede observar que para todas las concentraciones se logran remociones que permiten llegar a niveles por debajo de lo establecido por la norma correspondiente. En este sentido se puede observar que después de 168 hrs se tienen concentraciones de: 3, 34.2, 341, 339.8, 289.8 ppm, las cuales corresponden a las concentraciones iniciales de 50, 100, 1000, 2000 y 2979.2 ppm respectivamente.

Tabla 1. Resultados de absorción por la macrófita empleando sustrato.

Tiempo (Horas)	1	2	3	4	5	6	24	48	72	96	120	144	168
50 ppm	47.7	37.1	25.4	16.3	7.8	3.8	3.5	3.3	3.2	3.2	3.2	3.2	3
100 ppm	94.3	88.5	72.6	53.9	41.7	37.6	36.5	35.5	35.5	35.5	35.5	34.2	34.2
1000 ppm	928.8	842.3	704.8	645.6	435.6	359.5	357.2	345.6	345.3	344.6	341.5	341	341
2000 ppm	1831	1711	1584	1165	856.7	457.2	352.1	350.4	347.8	345.7	342.6	342.1	339.8
2979.2 ppm (agua real)	2681	2268	1757	1376	845.7	537.8	416.7	303.5	301.8	298.8	297.2	297.1	289.8

En la Tabla 2 se muestran los resultados de la absorción de sulfato por medio de la macrófita con respecto al tiempo sin utilizar sustrato, en los datos se puede observar que al igual que en el caso en el que se empleó sustrato se logran remociones que permiten llegar a niveles por debajo de lo establecido por la norma correspondiente. En este sentido los datos arrojan que después de 168 hrs se tienen concentraciones de: 2.9, 28.5, 298.8, 287.5, 266.5 ppm, las cuales corresponden a las concentraciones iniciales de 50, 100, 1000, 2000 y 2979.2 ppm respectivamente.

Tabla 2. Resultados de absorción por la macrófita sin sustrato.

Tiempo (Horas)	1	2	3	4	5	6	24	48	72	96	120	144	168
50 ppm	45.6	35.2	25.4	14.6	7.2	3.2	3.2	3.1	3.1	3	3	2.9	2.9
100 ppm	90.8	85.5	72.6	49.8	35.5	32.5	34.2	33.7	32.1	29.8	29.2	28.7	28.5
1000 ppm	915.7	837.1	704.8	612.5	418.9	325.8	346.8	323.2	316.7	315.8	309.8	305.8	298.8
2000 ppm	1816	1688	1584	1065	756.6	416.1	344.8	323.5	315.9	307.7	297.8	288.9	287.5
2979.2 ppm (agua real)	2617	2157	1757	1268	745.9	501.5	408.9	315.6	285.6	279.4	275.7	270.2	265.4

En la Figura 3 se muestran los resultados comparativos de remoción para 50 ppm a diversos tiempos de operación, como se puede observar se tiene que la remoción aumenta considerablemente en las primeras horas del proceso, teniendo que después de 6 hrs la remoción se mantiene de manera constante reportando un valor de 0.92 en relación de Concentración final (C)/Concentración inicial (Co), en este sentido se puede inferir que la remoción óptima se obtiene a este tiempo con un valor porcentual de alrededor del 92%, lo anterior obedece a que posterior a este tiempo los índices de remoción se mantienen en rangos similares siendo medido este hasta un tiempo de 168 hr.

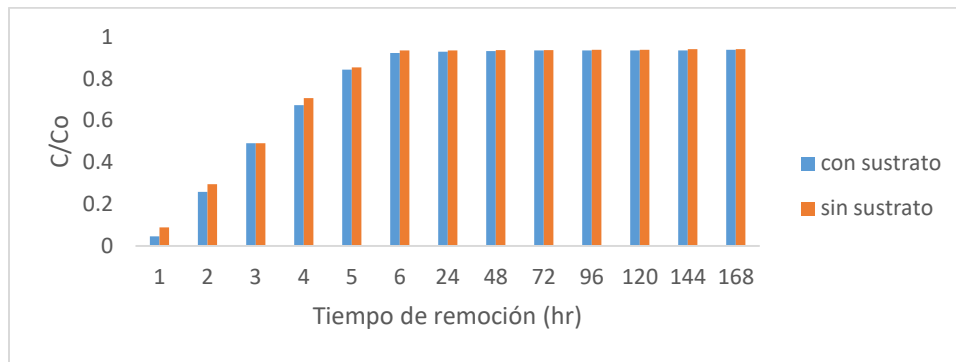


Figura 3. Gráfica comparativa de la velocidad de remoción para una concentración inicial de 50 ppm.

En la Figura 4 se muestran los resultados comparativos de remoción para 100 ppm a diversos tiempos de operación, los datos graficados muestran que para este caso de estudio el incremento en el índice de remoción presenta mayor diferencia significativa entre el tiempo 0 y 5 hr, teniendo que se después de este, el índice de remoción se mantiene en valores similares entre 0.6 y 0.7 lo que representa un valor porcentual de remoción del 70 %.

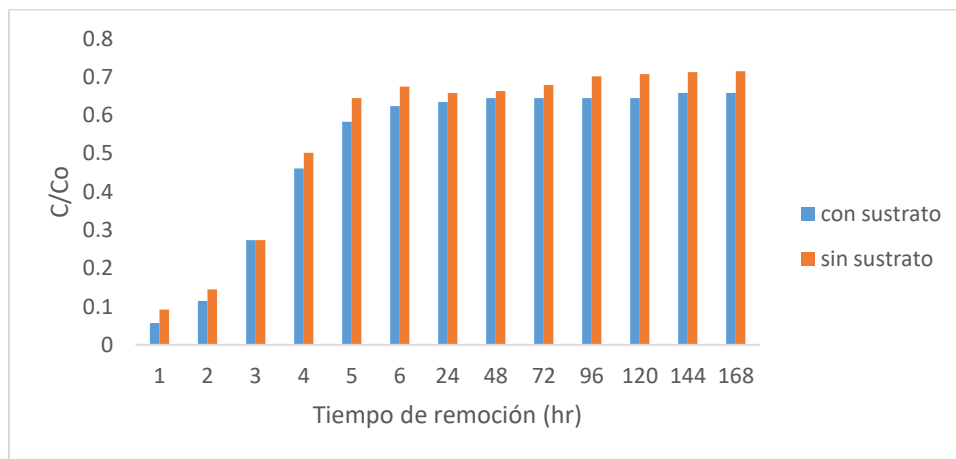


Figura 4. Gráfica comparativa de la velocidad de remoción para una concentración inicial de 100 ppm.

En la Figura 5 se muestran los resultados comparativos de remoción para 1000 ppm a diversos tiempos de operación, de igual manera que en el caso anterior, los datos muestran que entre el tiempo 0 y 5hr. la remoción incrementa significativamente hasta llegar a un índice de C/C_o de alrededor de 0.58, cabe mencionar que después de este tiempo la cinética de remoción disminuye manteniéndose entre 0.6 y 0.7 desde las 6 hrs hasta las 168 hr. lo que representa un valor porcentual de remoción del 70%.

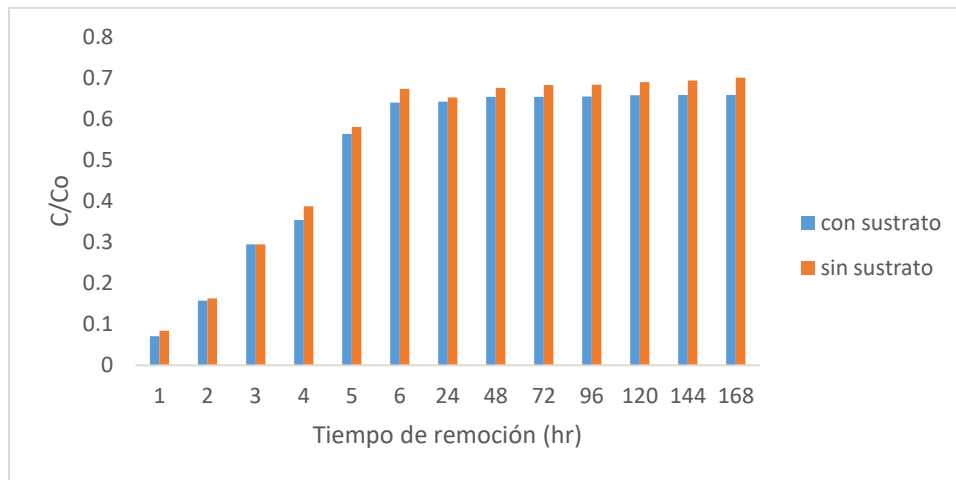


Figura 5. Gráfica comparativa de la velocidad de remoción para una concentración inicial de 1000 ppm.

En la Figura 6 se muestran los resultados comparativos de remoción para 2000 ppm a diversos tiempos de operación, en este caso se puede observar que el gradiente de remoción más representativa se da entre los tiempos 0 hr y 6 hr llegando a un índice de remoción de 0.79, posteriormente la velocidad de remoción disminuye manteniéndose entre 0.8 y 0.5 de la hora 6 hasta la hora 168. Lo que representa un valor porcentual de remoción del 85%.

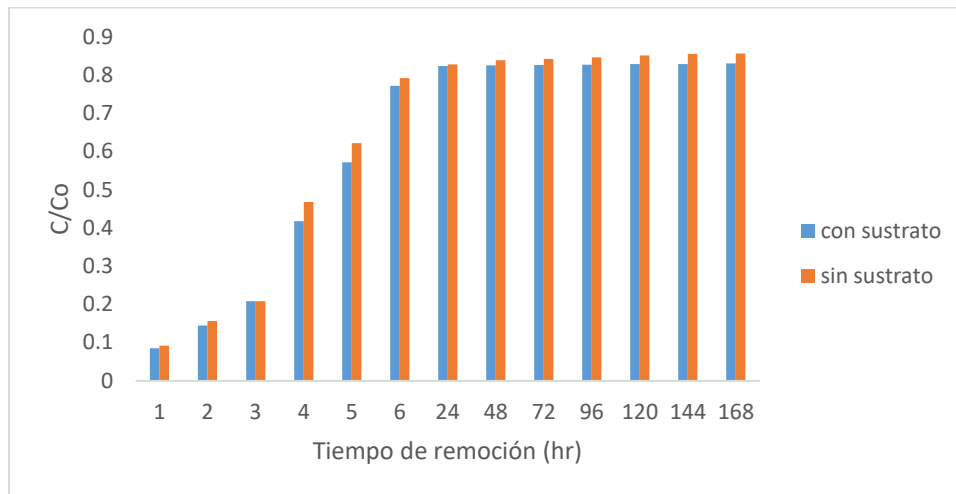


Figura 6. Gráfica comparativa de la velocidad de remoción para una concentración inicial de 2000 ppm.

En la Figura 7 se muestran los resultados comparativos de remoción para 2979.9 (agua real) ppm a diversos tiempos de operación, en este caso se puede observar que el gradiente máximo de remoción se da entre los tiempos 0 hr y 48 hr llegando a un índice de remoción de 0.89, posteriormente la velocidad de remoción disminuye manteniéndose alrededor de 0.9. lo que representa un valor porcentual de remoción del 90%.

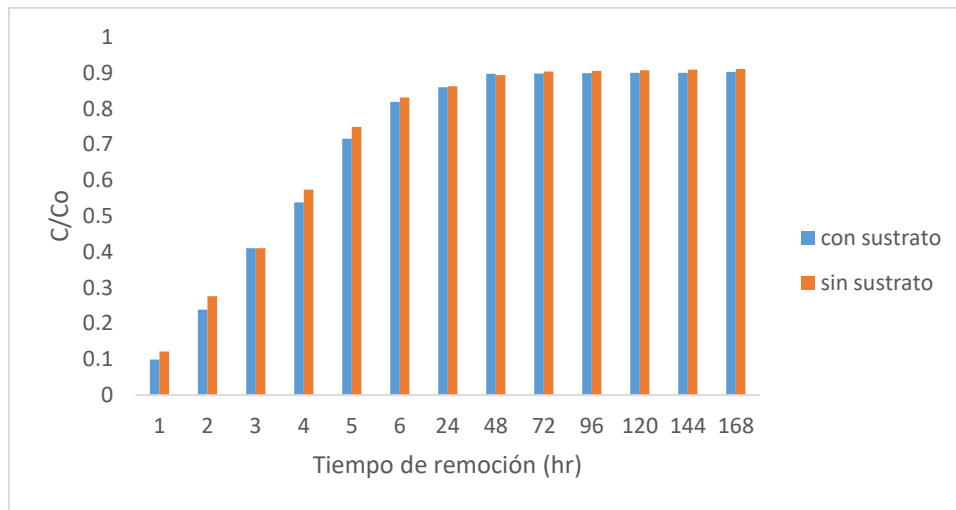


Figura 7. Gráfica comparativa de la velocidad de remoción para una concentración inicial de 2979.9 ppm.

CONCLUSIONES

Los resultados muestran que la macrófita tiene la capacidad de remover el ión sulfato de manera eficiente, de tal modo que después de 168 hrs de operación (experimento empleando sustrato) se tienen concentraciones de 3, 34.2, 341, 339.8, 289.8 ppm de sulfato correspondientes a concentraciones iniciales de 50, 100, 1000, 2000 y 2979.9 ppm respectivamente. Para el caso en el que se llevó a cabo la remoción sin sustrato se tienen a 168hr concentraciones de 2.9, 28.5, 298.8, 287.5, 266.5 ppm para concentraciones iniciales de 2.9, 28.5, 298.8, 287.5, 266.5 ppm respectivamente. El estudio comparativo muestra que no existe diferencia considerable en la remoción al emplear sustrato o no, teniendo que para los casos de estudio correspondientes a 50, 100, 1000, 2000 y 2979.9 ppm se tienen porcentajes de remoción alrededor de 92%, 70%, 70%, 85% y 90%. Respectivamente. En este sentido se puede observar que la rapidez de remoción mayor es de 5hr para el caso de 100 ppm y de 6 hr para los casos de 50, 1000, y 2000 ppm, en lo que respecta al agua real (2979.9 ppm) la rapidez de remoción mayor llega a 48 hr. Lo anterior permite dilucidar que dicha macrófita puede ser empleada para generar tecnologías que ayuden a la rehabilitación del recurso hídrico.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Departamento de Ingeniería en Minas, Metalurgia y Geología y a la División de Ingenierías del Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato. Por el apoyo brindado en este proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

1. L. Moriel, "Ataques químicos por sulfatos al hormigón" ARQHYS, 2012. www.arqhys.com.
2. Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, "Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización".
3. W. Heizer " Intestinal effects of sulfate in drinking water on normal human subjects" Dig Dis Sci. 1997 May;42(5):1055-61.

4. P. Gamonal "Tratamiento de drenajes ácidos de minas en humedales construidos". www.sedapal.com.pe/c/document.
5. EPA 542-F-96-025 [en línea]. Guía del ciudadano: medidas fitocorrectivas. Estado Unidos, 1996. Disponible en <http://www.epa.gov/swertio1/download/remed/spanphyt.pdf>.
6. R.A. Núñez, V.Y. Meas, R. Ortega y Olgún, E.J. Fitorremediación: fundamentos y aplicaciones. 2004. Ciencia. Revista de la Academia Mexicana de Ciencias. 55: 69-82.
7. F.X. Mojica-Rodríguez. Tesis: Análisis de la capacidad de remoción de nutrientes de la *Eleocharis bonariensis* Nees. Universidad de Guanajuato.

NUEVOS CATALIZADORES CON ARREGLO METAL-ORGANICO Y SU APLICACIÓN EN LA DEGRADACION DE CONTAMINANTES REFRACTARIOS DEL AGUA.

Gabriela Camarillo-Martínez, Eglá Yareth Bivián-Castro

Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara. Av. Enrique Díaz de León No.1144, Col. Paseos de la Montaña, C.P. 47460, Lagos de Moreno, Jal., México. *E-mail: ebivian@culagos.udg.mx

RESUMEN

Una gran variedad de catalizadores heterogéneos con metales de transición como especies activas, han sido reportados para la degradación catalítica de contaminantes refractarios en el agua como los fenoles. Los materiales más nuevos para este tipo de aplicaciones son los arreglos metal-orgánicos (MOFs), su estructura se compone por un ligante orgánico y un complejo metálico a los cuales se les llaman unidades de construcción secundaria (SBUs)¹. Una SBU formada por ácidos carboxílicos con un metal como el cobre le da al material estructuras especiales formando arreglos en tercera dimensión y con novedosas características que los hacen adecuados como catalizadores. Tal es el caso del MOF llamado Cu-BTC, cuya SBU orgánica es ácido 1,3,5-bencentricarboxílico (BTC), probado en la oxidación catalítica de fenol en presencia de H₂O₂ como agente oxidante y reportándose hasta un 60% de conversión². En nuestro grupo de trabajo se ha sintetizado un nuevo MOF con cobre, BTC y ácido 4-vinilbenzoico, se utilizó en el mismo sistema de catálisis y en condiciones similares de reacción, se obtiene el 72% de conversión, ya que su arreglo expone una configuración mayor de sitios activos que hacen posible una mejor degradación del fenol que otros catalizadores. Por lo que el diseño de MOFs es una alternativa viable para la eliminación de contaminantes refractarios del agua¹.

INTRODUCCIÓN

Con el desarrollo de la industria para satisfacer la creciente demanda de productos químicos, el problema de la contaminación ambiental, especialmente la del agua, se ha vuelto un problema grave de los últimos tiempos. El fenol y sus derivados, son contaminantes refractarios comunes en las aguas residuales procedentes de las industrias fabricantes de herbicidas, plaguicidas, pinturas, cuero y textiles¹. Estos contaminantes se han convertido en el foco de tratamiento de efluentes debido a su alta toxicidad y pobre biodegradabilidad. En el tratamiento de descargas contaminantes, el uso de la catálisis heterogénea se muestra como una gran opción frente a los problemas de contaminación ambiental y es un medio eficiente para la degradación y oxidación de estos desechos peligrosos que afectan principalmente al sistema nervioso central y pueden producir daños al hígado, por lo cual la norma oficial mexicana NOM-001-ECOL-1996³ establece una concentración máxima de 14.4 mg/L de fenol y sus derivados en aguas residuales. Es por eso que en nuestro grupo de trabajo se preparó un innovador catalizador heterogéneo cuya estructura está conformada por un arreglo metal-orgánico, una SBU compuesta por un complejo dinuclear de cobre y ácido 4-vinilbenzoico que se coordina por el ion metálico a una segunda SBU, el BTC. Este material es análogo al catalizador comercial Basolita C-300⁴, ya que la SBU inorgánica está dispuesta en una conformación del tipo paddle-wheel, dos iones Cu(II), cada uno de ellos coordinado a cuatro átomos de oxígeno. Estos materiales fueron probados en la reacción de oxidación del fenol y peróxido de hidrógeno como agente oxidante, obteniéndose porcentajes de degradación de hasta un 72% de conversión, en condiciones suaves. El diseño y síntesis de estos nuevos catalizadores con arreglos metal-orgánicos es una propuesta adecuada para la degradación del fenol y por lo tanto para su transformación en otras especies químicas que puedan resultar menos tóxicas para el medio ambiente.

ANTECEDENTES

La creciente contaminación y deterioro de la calidad del agua son serios problemas que impactan en la salud humana y el desarrollo ambiental. Desechos provenientes de plantas químicas, procesadoras de papel, fertilizantes y pesticidas, contienen de forma usual compuestos químicos aromáticos, metales pesados, colorantes orgánicos, y otros materiales con azufre y nitrógeno, estos son considerados como la más importante causa de la contaminación del agua. Entre estos químicos peligrosos, el fenol y los compuestos fenólicos son tóxicos para los organismos acuáticos, incluso en bajas concentraciones, por lo tanto un tratamiento previo para estos contaminantes es esencial antes de la disposición final del agua. Los procesos de oxidación avanzada como Fenton, Foto-fenton, oxidación por ozono y luz ultravioleta, se utilizan para la remoción del fenol. El principal problema de los métodos de oxidación avanzada radica en el alto costo de los reactivos como el ozono, peróxido de hidrógeno o en el uso de fuentes de energía como luz ultravioleta⁵. Una alternativa que hace frente a los problemas de contaminación ambiental y es un medio eficiente para la degradación de estos desechos peligrosos es la catálisis heterogénea, en particular, la oxidación catalítica heterogénea en presencia de peróxido de hidrógeno y un catalizador, es una ruta posible para el tratamiento de vertidos de aguas con residuos tóxicos y refractarios que involucra una oxidación parcial o total de compuestos orgánicos⁶.

La búsqueda e investigación de catalizadores que sean altamente activos y estables para la oxidación de fenoles con peróxido de hidrógeno bajo condiciones suaves, es el foco de atención de muchos científicos e ingenieros involucrados en el tratamiento de aguas. Los catalizadores más actuales y prometedores para la oxidación de fenol y otros contaminantes orgánicos refractarios son los Arreglos Metal-Orgánicos (MOFs)⁶.

Los arreglos metal-orgánicos (MOFs) son polímeros de coordinación, construidos a partir de nodos metálicos y ligantes orgánicos a los cuales se les llama unidades de construcción secundaria (SBUs) como se observa en la Fig. 1. Debido a sus características particulares como porosidad, alta área superficial, baja densidad y facilidad para la construcción y diseño del arreglo, los MOFs tienen muchas aplicaciones, como en separación y almacenamiento de gases, liberación de fármacos, sensores y membranas. Recientemente, materiales basados en MOFs se han estudiado como catalizadores heterogéneos en la oxidación selectiva de sustratos orgánicos aromáticos, como hidrogenación de olefinas, reducción de 4-nitrofenol y oxidación de CO, condensación Knoevenagel y reacción de acoplamiento Suzuki. Además existen estudios que han explorado las propiedades fotocatalíticas de algunos MOFs híbridos como MIL-125(Ti), CdS/UiO-66, entre otros⁷.

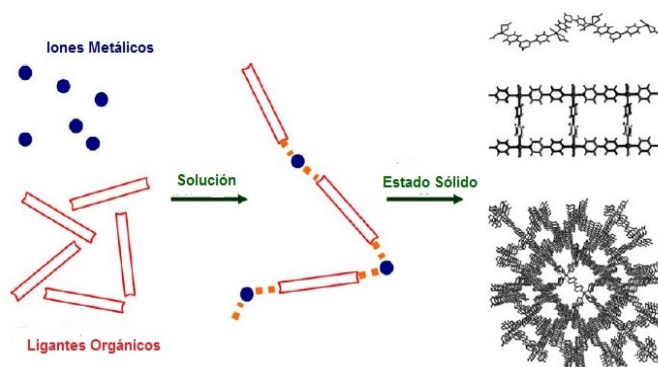


Fig.1. Construcción de MOFs en varias dimensiones por autoensamblaje de SBUs inorgánicas (iones metálicos) y orgánicas (ligantes)⁸.

La actividad catalítica de los MOFs está relacionada con los componentes metálicos del arreglo, ya sea en los centros metálicos aislados o en clústeres metálicos, este tipo de materiales se consideran como catalizadores del tipo ácido de Lewis. Un ejemplo que ya ha sido estudiado y

reportado por sus propiedades en catálisis heterogénea es el MOF Basolita C-300, también conocido como Cu-BTC o HKUST-1. En este arreglo, la SBU inorgánica se conforma por dos centros metálicos (Cu^{2+}), cada uno de ellos coordinado a cuatro átomos de oxígeno, y una molécula de agua. Los átomos de oxígeno son parte de la SBU orgánica, el BTC. Para que la Basolita C-300 pueda emplearse como catalizador, se le debe dar un tratamiento térmico para eliminar las moléculas de agua, y así los iones metálicos expongan un sitio de coordinación libre y funcionen como sitios activos catalíticos⁹ (ver Fig. 2). Este MOF se ha probado en la oxidación de fenoles en aguas residuales, en la oxidación de polifenoles presentes en aguas residuales provenientes de las industrias procesadoras de aceites comestibles¹⁰, y en la oxidación de alcoholes¹¹.

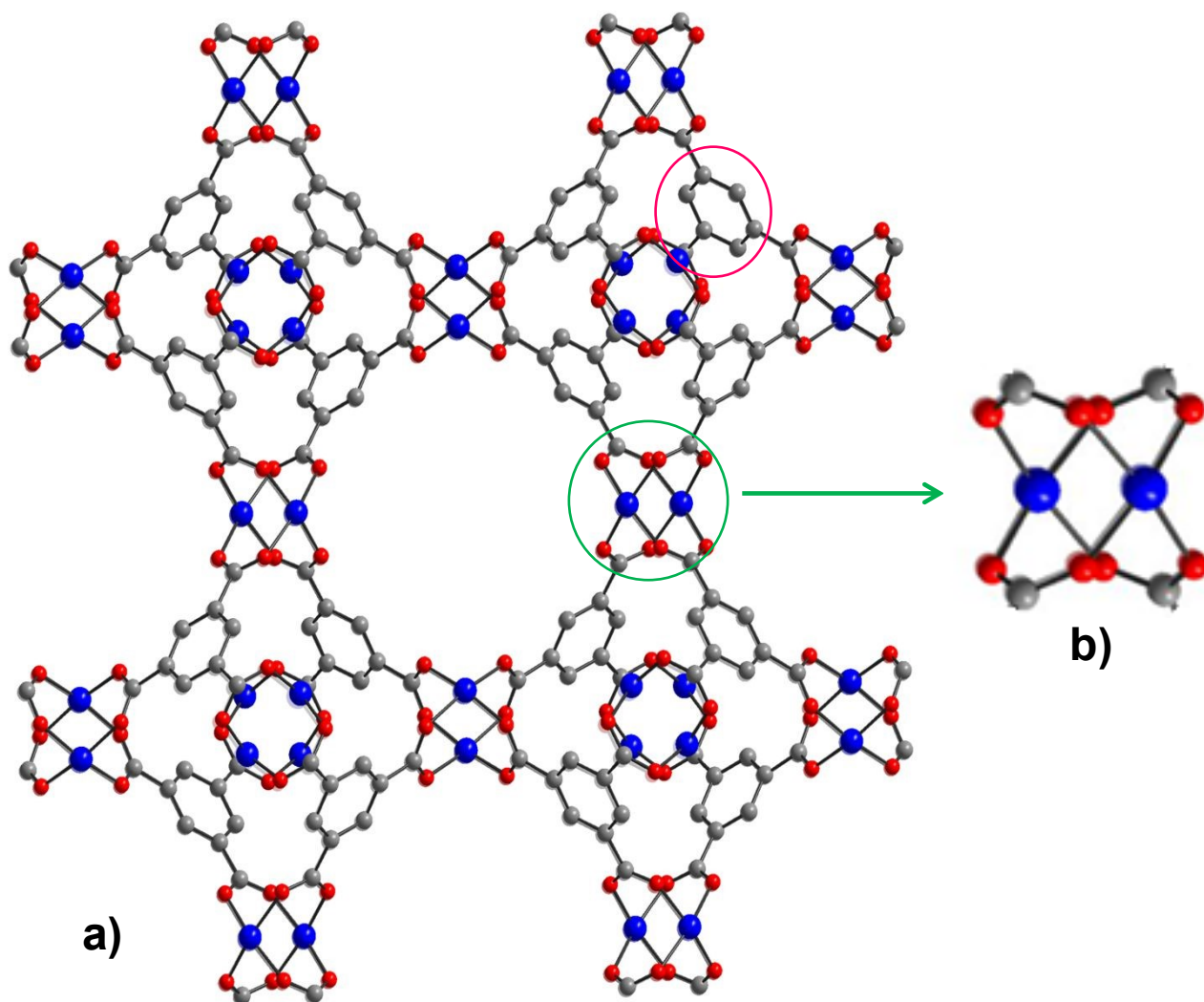


Fig. 2. Estructura de la Basolita C-300. a) Las esferas de color gris representan átomos de carbono, el círculo rosa indica la SBU orgánica (BTC). b) SBU inorgánica en paddle-wheel, las esferas rojas representan átomos de oxígeno, las azules iones de Cu^{2+} , no se muestran moléculas de agua coordinadas al ion metálico¹².

METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Para la preparación del catalizador (MOFs) y las pruebas de oxidación catalítica del fenol se utilizan los siguientes reactivos: Ácido trimésico 95% (BTC) (ácido 1,3,5-bencentricarboxílico) ($C_6H_3(CO_2H)_3$), N,N-dimetilformamida 99% (DMF) ($HCON(CH_3)_2$), Alcohol etílico absoluto 95% (C_2H_6O), Fenol 99% (C_6H_6O), Peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (30% en peso), Agua desionizada (H_2O). Todos los reactivos y solventes fueron adquiridos de forma comercial, son de grado analítico y se usaron sin previa purificación.

Como SBU para la construcción del MOFs se utilizó el complejo metal-orgánico $[Cu_2(VBA)_4(H_2O_2)] \cdot 6H_2O \cdot 0.15CNCH_3$ que tiene conformación tipo paddle-wheel, sintetizado y caracterizado anteriormente por nuestro grupo de trabajo (VBA= ácido 4-vinilbenzoico)¹³. Los resultados de análisis elemental (C, H, N) fueron proporcionados por el ALS Environmental's Tucson Laboratory. El diseño experimental comprende tres etapas:

Síntesis de los materiales MOFs.

Para la síntesis de los materiales se utilizó el método hidrosolvotermal, el cual consiste en colocar en un tubo de alta presión una mezcla de reactivos, este se pone en un baño de arena, a 120°C por 24 h. La mezcla de reactivos se prepara a partir de dos soluciones, una con 0.055 mmol de BTC que se disuelven en 0.4 mL de etanol que se adicionó a una segunda solución, compuesta por 0.4 mL de agua, 3.7 mL de DMF y 0.099 mmol de $[Cu_2(VBA)_4(H_2O_2)] \cdot 6H_2O \cdot 0.15CNCH_3$. Al final del tiempo de reacción, el tubo se deja enfriar lentamente hasta la temperatura ambiente, la solución se filtra al vacío, se obtiene un polvo de color azul. Análisis elemental, $C_{109.5}H_{127.5}Cu_5N_{0.5}O_{56.5}$ (2670.3): calculado C, 49.20; H, 4.77; N, 0.26%; encontrado: C, 34.80; H, 4.08, N, 0.24%.

Caracterización de los materiales MOFs.

Para caracterizar y conocer las propiedades de los materiales sintetizados, se usaron las técnicas que a continuación se mencionan: se obtuvieron espectros de FT-IR en un intervalo de 4000-600 cm^{-1} con un espectrómetro Perkin Elmer Spectrum RXI, la muestra se coloca directamente en el accesorio ATR del equipo para realizar la medición. Para la obtención de los espectros electrónicos por reflectancia difusa en el rango de 200 a 900 nm, se utilizó un espectrómetro Ocean Optics QE65000 y una esfera integradora Ocean Optics ISP-30R. Se realizaron pruebas de análisis termogravimétrico, en un rango de 25 a 1100°C, a una velocidad de 8°C/min empleando un equipo TA Instruments Q600 en presencia de nitrógeno con un flujo de 20 cm^3/min . Para la determinación del comportamiento magnético se utilizó una balanza de susceptibilidad magnética Sherwood Scientific MSB-Mk1, las mediciones se realizaron a temperatura ambiente.

Evaluación de los materiales MOFs como catalizadores.

La reacción de catálisis para la evaluación de los materiales como catalizadores es el proceso de oxidación del fenol. Para la reacción de catálisis se emplea un matraz bola de dos bocas de 50 mL en el cual se adicionan 0.06 mol de fenol (5.6466 g) el cual se disuelve en 10 mL de etanol y se agrega el catalizador (previamente pulverizado en mortero), se coloca un refrigerante como sistema de reflujo. Con un embudo de adición se deja gotear en el matraz una mezcla de 10 mL etanol y H_2O_2 (30% en peso) como agente oxidante¹⁴. Con una parilla de calentamiento y agitación magnética y en baño de aceite se mantiene en agitación el sistema y a la temperatura deseada durante 2 h que dura el experimento (una vez que la mezcla de etanol y agente oxidante fue incorporada por completo), en este periodo varias muestras fueron extraídas para su análisis. En los experimentos de catálisis se variaron las condiciones de temperatura (30, 40, 50 y 60 °C), cantidad de catalizador (10, 20 y 30 mg) y cantidad de agente oxidante en relación al fenol (relaciones molares de fenol/ H_2O_2 de 1:1, 1:0.66 y 1:0.33) (ver Fig. 3). La cuantificación de la concentración de fenol al final de la reacción de catálisis se mide con el método

espectrofotométrico de la 4-aminoantipirina y obtener con estos datos el porcentaje de conversión del fenol¹⁵.

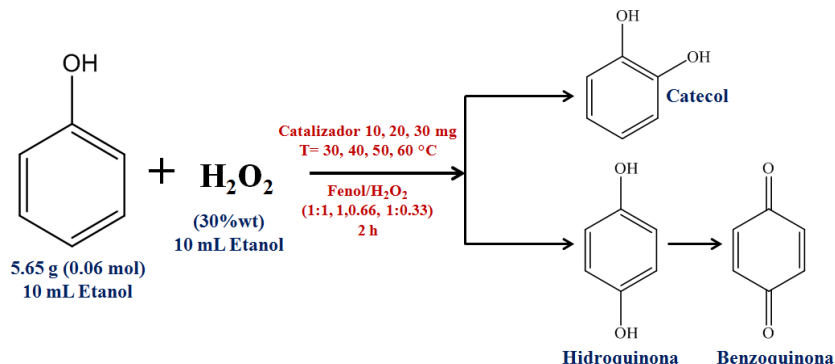


Fig. 3. Reacción de oxidación catalítica del fenol en presencia de H₂O₂ como agente oxidante y algunos posibles productos de la oxidación.

RESULTADOS

El material final que se obtiene de la síntesis es un polvo de color azul, el cual se somete inicialmente a pruebas espectroscópicas para la elucidación de la estructura. En la Fig. 4 se observan los espectros FT-IR del ligante orgánico (BTC), la SBU [Cu₂(VBA)₄(H₂O₂)]·6H₂O·0.15CNCH₃ y el MOF. Las bandas más representativas que fueron identificadas para el MOF son las siguientes: una banda ancha de intensidad media en 3341 cm⁻¹ se atribuye al modo vibracional de tensión del enlace ν(O-H), lo que sugiere la presencia de H₂O en el arreglo, esta misma banda se observa en el espectro de la SBU pero en 3436 cm⁻¹. Se observan dos bandas de intensidad media y fuerte en 1586 y 1372 cm⁻¹ asociadas al grupo carboxilo, a los modos vibracionales de tensión asimétrica ν_{as}(C=O) y simétrica ν_s(C-O). La diferencia entre los valores de las señales correspondientes a los grupos carboxilos de tensión asimétrica ν_{as}(C=O) y simétrica ν_s(C-O) conocido como Δν (Δν=ν_{as}(C=O)-ν_s(C-O)) indica la forma de coordinación del grupo carboxilo, para el MOF el valor de Δν es de 214 cm⁻¹ el cual corresponde a un carboxilo coordinado de forma iónica, al igual que en la SBU donde el valor de Δν es de 183 cm⁻¹ (ν_{as}(C=O)=1590 cm⁻¹ y ν_s(C-O)=1407cm⁻¹)¹⁶. No existe una diferencia significativa entre los valores de Δν, lo que sugiere que la estructura de la SBU se mantiene en el MOF sin modificarse. La banda correspondiente al grupo carboxilo de tensión asimétrica del ligante BTC se identificó en 1716 cm⁻¹; mientras que en el espectro del MOF, esta señal se encuentra desplazada en 1647 cm⁻¹, lo que sugiere que este se encuentra coordinado al ion metálico. Una banda de intensidad media en 1547 cm⁻¹ se asigna al modo vibracional de tensión del doble enlace ν(C=C) del anillo aromático correspondiente al VBA de la SBU en el MOF (esta señal se encuentra en 1549 cm⁻¹ en la SBU). La banda de intensidad media que se identifica en 784 cm⁻¹ corresponde al modo vibracional de deformación del enlace δ(C_{sp}²-H), también del anillo aromático del VBA, en la SBU esta señal se observa en 789 cm⁻¹. Esta misma frecuencia de vibración se identifica en el ligante BTC como una banda de intensidad media en 772 cm⁻¹, mientras que en el MOF se presenta levemente desplazada en 760 cm⁻¹. Además una banda de intensidad fuerte que se identifica en 721 cm⁻¹ corresponde al modo vibracional de tensión del enlace ν(Cu-O), en el MOF esta misma banda se presenta en 730 cm⁻¹.

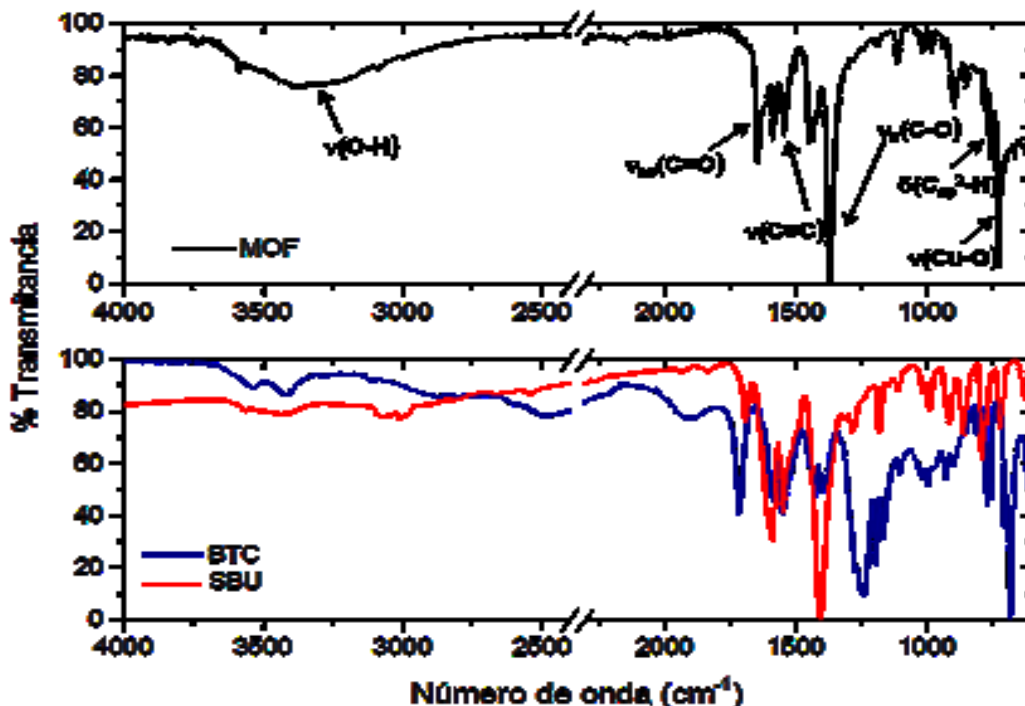


Fig. 4. Espectros FT-IR, en la parte superior se muestran algunas de las asignaciones de las bandas en el espectro del MOF, en la parte inferior se encuentran los espectros de la SBU y el ligante BTC.

Los espectros electrónicos por reflectancia difusa de la SBU y el MOF muestran dos bandas casi en la misma longitud de onda, en la región visible se observa una banda en 690 nm para la SBU y en 693 nm para el MOF, estas se deben a las transiciones d-d de los metales de transición, en este caso el ion Cu^{2+} , esto nos indica que en ambos materiales la geometría es la misma, pirámide de base cuadrada. Las bandas en la zona UV, representan transferencias de carga de metal al ligando, en 349 y 352 nm, para la SBU y el MOF, respectivamente (Fig.5a). El proceso de descomposición y la estabilidad térmica del MOF fue determinada por análisis termogravimétrico (TGA). El termograma del complejo se muestra en la Fig. 5b y representa un proceso de descomposición en cuatro etapas. La primera etapa de pérdida de peso es del 18%, se encuentra en el rango de temperatura de 25 a 100 °C, y corresponde a la liberación de los solventes, moléculas de DMF y agua de hidratación (calc. 17.55%). La segunda y tercera etapa no se distinguen completamente y se observan de 100 a 450 °C, se muestra una pérdida de peso continua que corresponde la descomposición gradual de los ligantes orgánicos BTC y VBA (obs. 52%, calc.54.23%). La última etapa de pérdida de peso en el intervalo de 450 a 1100 °C corresponde a la descomposición final del VBA y al residuo formado, CuO, igual al 30% (calc. 29.91%). Con estos resultados se sugiere una estructura y fórmula para el MOF, $[\text{Cu}_2(\text{VBA})_4]_{2.5}\text{BTC}_2 \cdot 24\text{H}_2\text{O} \cdot 0.5\text{DMF}$. El momento magnético efectivo del MOF es $\mu_{\text{eff}}=5.5 \text{ MB}$ y el valor de la susceptibilidad magnética es $\text{Xg}= 4.60 \times 10^{-6} \text{ cm}^3/\text{g}$, estos valores son típicos del comportamiento paramagnético del material debido a la presencia del ion metálico, Cu^{2+} , y su configuración electrónica d^9 . Además el valor de μ_{eff} es característico para un material con cinco electrones desapareados, como se sugiere en la estructura del MOF, en que la unidad repetitiva del arreglo tiene este número de iones metálicos¹⁷.

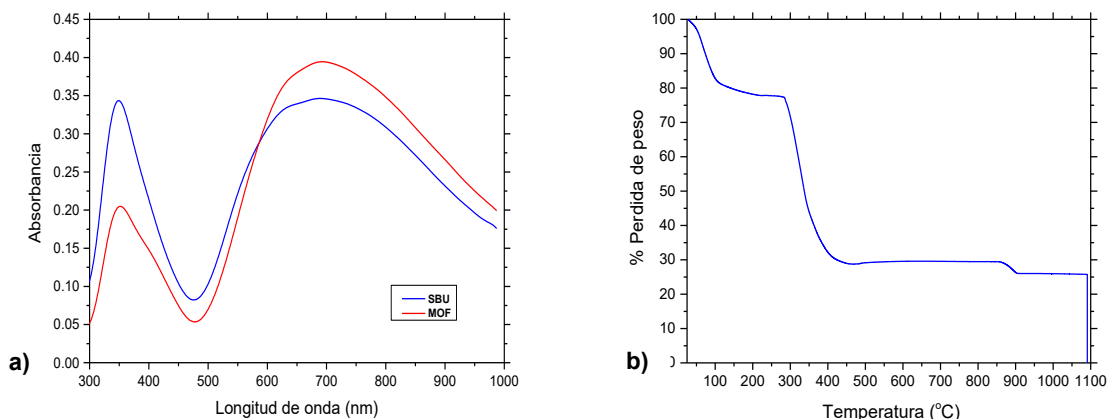


Fig. 5. Espectros electrónicos de reflectancia difusa del MOF y la SBU (a) y análisis termogravimétrico (TGA) del MOF (b).

El MOF con la estructura sugerida $[Cu_2(VBA)_4]_{1.25}BTC_2 \cdot 24H_2O \cdot 0.5DMF$ fue probado como catalizador en la oxidación del fenol usando H_2O_2 como oxidante y variando algunos de los parámetros de reacción como temperatura, relación molar fenol/ H_2O_2 y cantidad del catalizador. La Fig. 6 muestra el efecto de la temperatura de reacción en la oxidación de fenol, las temperaturas investigadas fueron 30, 40, 50 y 60°C usando etanol como solvente. Los porcentajes de conversión del fenol fueron de 57.5, 70.9, 63.3 y 70.0%, para cada una de las temperaturas mencionadas anteriormente, cada uno de estos experimentos tienen condiciones de reacción fijas como la cantidad de catalizador (20 mg) y la relación entre fenol y agente oxidante (fenol/ H_2O_2 = 1:0.66).

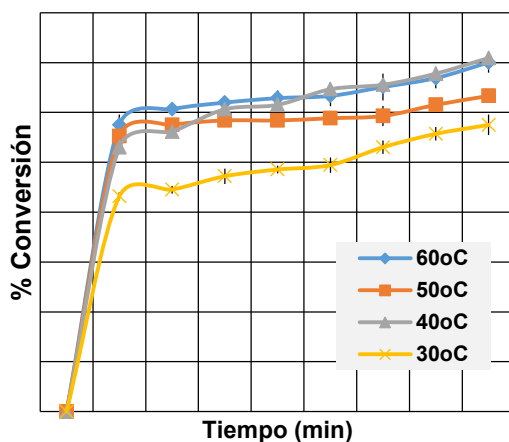


Fig. 6. Efecto de la temperatura en la oxidación catalítica de fenol.

Al utilizar diferentes cantidades de catalizador (10, 20 y 30 mg) se ve incrementado el porcentaje de conversión del fenol, de 68.7, 70.9 y 72.3%, de igual forma con las condiciones fijas de reacción de temperatura (40°C) y la relación entre fenol y agente oxidante (fenol/ H_2O_2 = 1:0.66) (ver Fig.7a). Otro parámetro estudiado en las reacciones de catálisis fue la relación fenol/ H_2O_2 , para las relaciones de 1:0.33, 1:0.66 y 1:1, los porcentajes de conversión de fenol alcanzados fueron de 65.6, 70.9 y 71.8%, respectivamente. Las condiciones de reacción fijas para estos experimentos son temperatura (40°C) y cantidad de catalizador (20 mg) (ver Fig.7b). En base a estos resultados

se propone que las mejores condiciones de reacción para la oxidación catalítica del fenol son los siguientes parámetros, temperatura 40°C, cantidad de catalizador 20 mg, y relación fenol/H₂O₂ de 1:0.66; que reportan una conversión del 70.9%, aunque en otras condiciones la degradación del fenol es un poco mayor pero no significativa y al considerar estos valores se ahorra energía y reactivos.

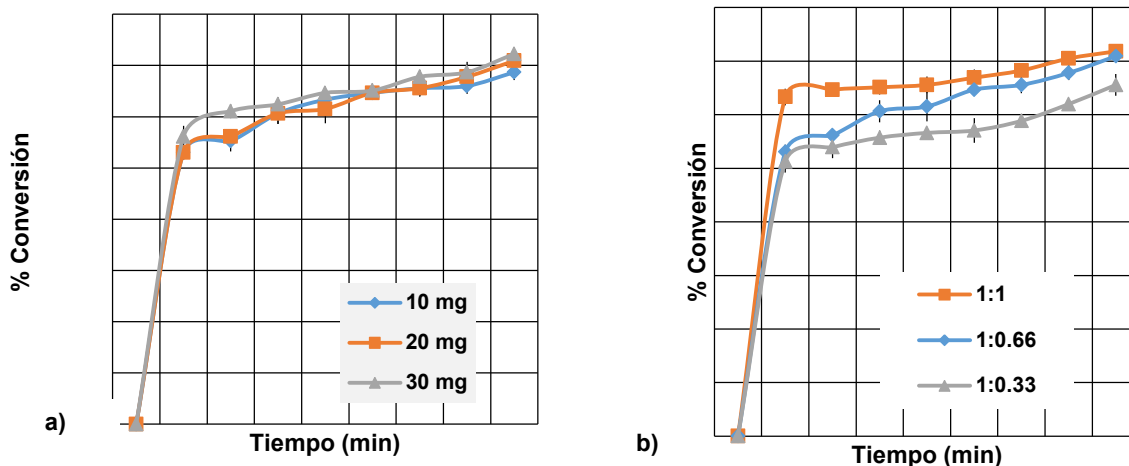


Fig. 7. Efecto de la cantidad de catalizador (a) y de la relación fenol/H₂O₂ (b) en la oxidación catalítica de fenol.

CONCLUSIONES

En resumen, un nuevo arreglo metal-orgánico fue sintetizado por el método hidrosolvotermal y caracterizado estructuralmente, los resultados sugieren una configuración con la fórmula [Cu₂(VBA)₄]_{2.5}BTC₂•24H₂O•0.5DMF que puede repetirse para formar un polímero de coordinación. La SBU inicial que tiene una configuración del tipo paddle-wheel que se mantiene en el MOF, esto queda claramente argumentado por los resultados de FT-IR y espectroscopía de reflectancia difusa. En condiciones suaves el MOF tiene alta actividad catalítica en el proceso de oxidación del fenol usando H₂O₂ como agente oxidante, fueron comparadas algunas variables en este procedimiento, donde la temperatura de 40°C fue la óptima para obtener el máximo porcentaje de conversión de 72%, junto con una relación molar de fenol/H₂O₂ de 1:0.66 y 30 mg de catalizador. Sin embargo, el uso de 20 mg de catalizador es recomendable ya que representa una forma de economizar y la conversión del fenol solo se reduce en 2%. Estos porcentajes altos de degradación del fenol se debe a que el arreglo expone una configuración de sitios activos (Cu²⁺) que hace posible una buena conversión del fenol que otros catalizadores. Por lo que el diseño de MOFs es una alternativa prometedora y viable para la eliminación de contaminantes refractarios del agua como el fenol.

AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren agradecer al CONACYT por la Beca No. 292156, así como también al STAUdG por la licencia de trabajo para GCM, para la realización de estudios de doctorado, así como también a la Coordinación del programa de posgrado del CU Lagos-UDG, por el apoyo para la gestión de los recursos PROINPEP con lo que se ha financiado parte de este proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

1. K. Huang, Y. Xu, L. Wang, D. Wu, Heterogeneous catalytic wet peroxide oxidation of simulated phenol wastewater by copper metal-organic frameworks, *RSC Advances*, Vol.5, 2015, pp. 32795-32803.
2. S. Bhattacharjee, J.S. Choi, S.T. Yang, S.B. Choi, J. Kim, W.S. Ahn, Solvothermal synthesis of Fe-MOF-74 and its catalytic properties in phenol hydroxylation, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, Vol. 10, 2010, pp. 135-141.
3. NOM-001-ECOL-1996. Límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Diario Oficial de la Federación, 06 de enero de 1997.
4. A. H. Chughtai, N. Ahmad, H.A. Younus, A. Laypkov, F. Verpoort, Metal-organic frameworks: versatile heterogeneous catalysts for efficient catalytic organic transformations, *Chem. Soc. Rev.*, Vol. 44, 2015, pp. 6804-6849.
5. S. Esplugas, J. Giménez, S. Contreras, E. Pascual, M. Rodríguez, Comparison of different advanced oxidation processes for phenol degradation, *Water Research*, Vol. 36, 2002, pp. 1034-1042.
6. K. Maduna, A. Katovic, V. Tomasic, S. Zrnec, Characterization and activity of Cu/ZSM5 catalysts for the oxidation of phenol with hydrogen peroxide, *Chem. Eng. Technol.*, Vol. 31, 3, 2008, pp. 398-403.
7. Q. Sun, M. Liu, K. Li, Y. Han, Y. Zuo, F. Chai, C. Song, G. Zhang, X. Guo, Synthesis of Fe/M (M= Mn, Co, Ni) bimetallic metal organic frameworks and their catalytic activity for phenol degradation under mild conditions, *Inorg. Chem. Front.*, Vol. 4, 2017, pp. 144-153.
8. A. Y. Robin, K. M. Fromm, Coordination polymer networks with O- and N-donors: what they are, why and how they are made, *Coordination Chemistry Reviews*, Vol. 250, 2006, pp. 2127-2157.
9. S. Marx, W. Kleist, A. Baiker, Synthesis, structural properties, and catalytic behavior of Cu-BTC and mixed-linker Cu-BTC-PyDC in the oxidation of benzene derivatives, *Journal of Catalysis*, Vol. 281, 2011, pp. 76-87.
10. S. De Rosa, G. Giordano, T. Granato, A. Katovic, A. Siciliano, F. Tripicchio, Chemical pretreatment of olive oil mill wastewater using a metal-organic framework catalyst, *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 53, 2005, pp. 8306-8309.
11. B.R. Kim, J.S. Oh, J. Kim, C.Y. Lee, Robust aerobic alcohol oxidation catalyst derived from metal-organic frameworks, *Catal. Lett.*, Vol. 146, 2016, pp. 734-743.
12. J. Campbell, G. Székely, R.P. Davies, D.C. Braddock, A. G. Livingston, Fabrication of hybrid polymer/metal organic framework membranes: mixed matrix membranes versus in situ growth, *J. Mater. Chem. A*, Vol. 2, 2014, pp. 9260-9271.
13. B. Mata Ortega. 2013, Síntesis y caracterización de complejos de coordinación de cobre con ácido 4-vinilbenzoico como precursores de polímeros de coordinación estructuralmente análogos al Poliestireno. Tesis de Licenciatura, Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara, México.
14. L.G. Qiu, L.N. Gu, G. Hu, L.D. Zhang, Synthesis, structural characterization and selectively catalytic properties of metal-organic frameworks with nano-sized channels: a modular design strategy, *Journal of Solid State Chemistry*, Vol. 189, 2009, pp. 502-508.
15. NMX-AA-050-SCFI-2001. Análisis de Agua, determinación de fenoles totales en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas. Diario Oficial de la Federación, 01 de agosto del 2001.
16. K. Nakamoto, *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds. Part B: Applications in Coordination, Organometallic and Bioinorganic Chemistry*. Wiley, USA, 2009, pp. 64-66.
17. G. A. Lawrance, *Introduction to Coordination Chemistry*. Wiley, United Kingdom, 2010, pp.223-225.

GERMINACIÓN Y SOBREVIVENCIA DE *LYSILOMA MICROPHYLLUM* (FABACEAE) INOCULADO CON CONSORCIOS BACTERIANOS

Hernández-Vaca Bianca Ariadna, Hernández-Hernández Victoria, Colli-Mull Juan Gualberto

Departamento Licenciatura en Biología. Lab. de Bioprospección y Ecología Molecular. Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Carretera Irapuato-Silao, Km 12.5. C.P. 36821. Irapuato, Guanajuato.

RESUMEN

La especie *Lysiloma microphyllum* Benth. (Palo Prieto), es un árbol que crece en el bosque tropical caducifolio; sin embargo, dicha comunidad vegetal en Guanajuato ha disminuido su extensión a casi el 80% y actualmente existen pequeños manchones y relictos en el estado, por lo que se requiere propagar especies nativas para reforestar áreas perturbadas. El objetivo del presente estudio fue evaluar la germinación de *L. microphyllum* con la aplicación de consorcios bacterianos, procedente del suelo del Área natural protegida Las Palomas, sierra de Santa Rosa. La metodología incluyó la recolecta de semillas en el Cerro del Veinte-Cuchicuato, Irapuato durante el mes de julio de 2015, los dos consorcios bacterianos se obtuvieron a partir de aislados bacterianos de suelo de ANP, cada consorcio está formado por tres aislados, el primer por ITC33, ITCC21, ITCC24 y el segundo ITCC37, ITCC51, ITCC53; después estos se agregaron a los tratamientos de semilla (Control, Consorcio 1= C1BAH y Consorcio 2= C2BAH); las observaciones se hicieron cada tercer día para evaluar el porcentaje y sobrevivencia de las semillas y finalmente a los 18 días se incorporaron las plántula a semilleros. La germinación de las semillas fue a partir del tercer día hasta el 18 y el consorcio dos (C2BAH) fue con la mayor tasa siendo el 98%, además se midió el hipocótilo y raíz donde se tuvo un mayor crecimiento con el mismo consorcio. De acuerdo a trabajos realizados se tiene para *L. microphyllum* la emergencia del 80% y nosotros obtuvimos un mayor porcentaje por la acción del consorcio bacteriano.

INTRODUCCIÓN

El bosque tropical caducifolio es una comunidad vegetal que está decreciendo en el estado de Guanajuato, debido a la explotación forestal, la minería y la agricultura. Por esto se requiere establecer mecanismos estratégicos que involucren programas de manejo, capacitación, asistencia técnica e incentivos económicos que permitan su rescate y conservación. Una estrategia de rescate, conservación, restauración y manejo forestal de los fragmentos de vegetación nativa de nuestro país son las fuentes semilleros o actividades de germinación forestal (Arriaga, 2014). Las plantaciones forestales con especies nativas pueden desempeñar un papel importante en la recuperación de la estructura, riqueza y diversidad florística de los ecosistemas tropicales degradados. Así como, la recuperación del suelo, biomasa, humus, estructura, sobrevivencia y el reclutamiento de especies nativas que originalmente ocuparon estos espacios y en especial la diversidad generada por su regeneración natural. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar la germinación y sobrevivencia de *Lysiloma microphyllum* con la aplicación de consorcios bacterianos.

TEORÍA

México es un país megadiverso formado por diferentes tipos de vegetación, uno de estos es el bosque tropical caducifolio (BTC) o selva baja caducifolia. Para la región del bajío que incluye el estado de Guanajuato la comunidad vegetal está formada por un estrato arbóreo entre 4 a 10 m de altura, con copas poco densa que pierden las hojas durante un periodo de cinco a siete meses al año (octubre a mayo) y que contrasta fisonómicamente con el verdor que presenta en la temporada lluviosa (Rzedowski, 2006). Sin embargo, este tipo de vegetación ha sido desplazado en los

terrenos planos donde originalmente crecían, y ahora se encuentra muy fragmentado en localidades aisladas o se ha convertido en vegetación secundaria (Baldi, 2006).

Una familia representativa en el BTC es fabaceae con los géneros *Albizzia*, *Acacia*, *Erythrina*, *Eysenhardtia* y *Lysiloma*; los cuales sus semillas puede permanecer en latencia durante meses o años, y para su propagación se requiere algún tipo de tratamiento previo a la siembra y tener no solo un elevado porcentaje de germinación, sino también una germinación rápida y uniforme después de la siembra (Doran, et al., 1983)

Una alternativa es el uso de consorcios microbianos que son la asociación natural de dos o más poblaciones microbianas, de diferentes especies, que actúan conjuntamente como una comunidad en un sistema complejo, donde todos se benefician de las actividades de los demás (Blanco-García, 2011).

Dentro de estas asociaciones están las bacterias promotoras de crecimiento (BPCV) que realizan funciones tales como: estimular la síntesis de sustancias reguladoras del crecimiento, fijar nitrógeno, solubilizar los nutrimentos, producir sideróforos y controlar los fitopatógenos del suelo, razón por la cual, las BPCV en la agricultura se postulan como alternativas prometedoras para reducir el usos de agroquímicos (Riveros, 2010).

PARTE EXPERIMENTAL

Se realizó la recolecta de vainas de *L. microphyllum* en el Cerro del Veinte, Cuchicuato, Irapuato, Gto., localizado en las coordenadas 20° 39' 40" N y 101° 27' 42" O y a una altitud de 1730 msnm; después los frutos se secaron a temperatura ambiente para obtener las semillas y se depositaron en frascos de plástico. Los aislados bacterianos utilizados forman parte del Cepario Regional de la carrera de Biología del Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, procedentes del Área natural las Palomas, Sierra de Santa Rosa. Cada aislado se activó y se puso a crecer en medio LB e incubó a 30°C en agitación durante 48 horas. Las pruebas de confrontación fueron a partir de 86 cepas de las cuales se seleccionaron seis aislados (ITCC 33, ITCC 21, ITCC 24, ITCC37, ITCC 53, ITCC 51). A partir de estos aislados se obtuvieron los dos consorcios el primero fue C1BAH formado por: (ITC33, ITCC21, ITCC24) y al segundo C2BAH constituido por: (ITCC 37, ITCC51, ITCC53).

Se aislados se sembraron en forma cruzada y asterisco para la confrontación (Alba-Landa, 2002). Las semillas se lavaron en un frasco de vidrio con hipoclorito al 15% durante 10 min., después de enjuagaron con agua estéril agitándolas para retirar todo el residuo solo una vez. Se pusieron a germinar 25 semillas en una caja Petri con cuatro repeticiones dando un total de 100 semillas para cada tratamiento control, consorcio 1 (C1BAH) y consorcio 2 (C2BAH), al control solo se le agrego 3 ml de PBS y a los dos tratamientos se agregó 3 ml de cada consorcio C1BAH y C2BAH.

Se realizaron observaciones cada tercer día durante 18 días, para checar el número de semillas germinadas, además se midió el tamaño de raíz e hipocótilo. Cuando las plántulas tuvieron algunas hojas se pasaron a semilleros.

Se aplicó el análisis estadístico ANOVA y la prueba de Tukey para comparar los tratamientos con el programa Minitab® 16.1.0.

RESULTADOS

La especie *Lysiloma microphyllum* pertenece a la familia Fabaceae, se conoce como Palo Prieto en la zona de estudio; son plantas de porte arbóreo de 3 a 7 m de altura, con corteza escamosa o áspera, café grisácea a blanco-grisácea en el tronco, hojas compuestas con foliolos linear-oblongos de 15 a 34 pares, flores sésiles, blancas a blanco-amarillentas pálidas, legumbre oblonga a angostamente oblonga, las colectadas con un tamaño de, de 5 a 14 cm de largo, de 2 a 2.0 cm de ancho; semillas 8 a 14 por legumbre, elípticas a ovadas, de 5 a 12 mm de largo (Figura 1).



Figura 1. A. Árbol. B. Flores blancas. C y D. Legumbre (Fotografía proporcionadas por Luis Fernando Ramos López)

Análisis estadísticos

La germinación de las semillas fue a partir del día dos hasta el 18, el porcentaje de germinación en *L. microphyllum* fue el 98% con el C2BAH, el consorcio C1BAH el 95% y el control con el menor porcentaje 60, con la $P = 0.5$ entre el consorcio C2BAH y control (Figura 2).

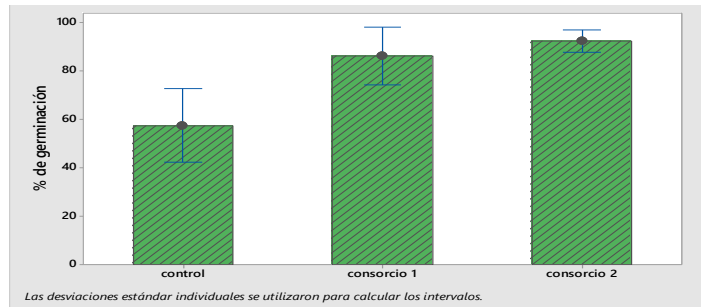


Figura 2. Porcentaje de germinación de *Lysiloma microphyllum*.

La longitud de la raíz fue mayor en el consorcio C2BAH con el 13-15 mm, en C1BAH fue de 13 mm y el control de 10-12 mm de longitud, no se observaron diferencias significativas entre estos (Figura 3).

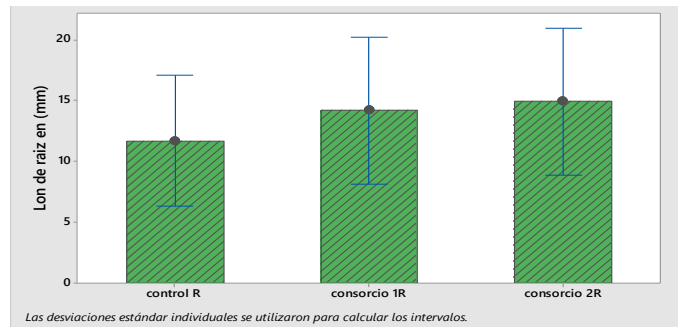


Figura 3. Comparación del tamaño de la raíz de *Lysiloma microphyllum*.

El tamaño del Hipocótilo con el consorcio C2BAH fue de 15 mm de longitud, en el consorcio C1BAH de 13 mm y control con 10 mm, se observó el 0.5 de diferencia significativa entre C2BAH y Control (Figura 4).

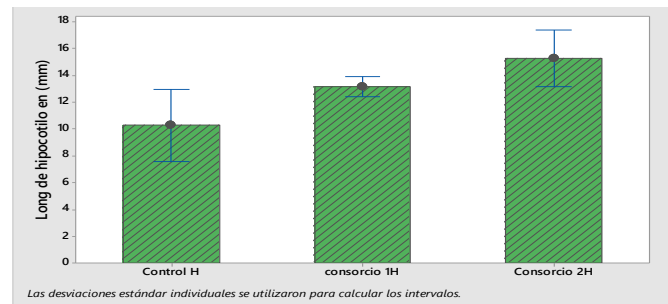


Figura 4. Longitud de hipocótilo de *Lysiloma microphyllum*.

CONCLUSIONES

1. El porcentaje de germinación fue del 98% con el consorcio C2BAH en la especie de estudio, se tiene para otras especies de fabaceae el 80%.
2. El consorcio C2BAH fue más eficiente también en el crecimiento de raíz e hipocótilo.
3. Se obtuvo una buena compatibilidad de los aislados para obtener los consorcios (C1BAH), (C2BAH), por lo tanto las bacterias promotoras de crecimiento tiene un gran aporte en la germinación y crecimiento de las estructuras en *Lysiloma microphyllum*, por lo se pretende aplicar los consorcios en otras especies de la misma familia en el BTC.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Alba-Landa, "Bacterias promotoras de crecimiento en plantas para propósitos agrícolas y ambientales. In: Microbiología agrícola: hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico, planta-microorganismo", (Eds.) Ferrera-Cerrato, R., and Alarcon, A. Chapter 8. Published by: Editorial Trillas, México. 2002, pp. 170-224.
2. M. V. Arriaga, G Cervantes, A. Vargas-Mena, "Manual de reforestación con especies nativas; colecta y preservación de semillas, propagación y manejo de plantas", México D.F. 2014.
3. G. Baldi, J.P. Guerschman, J.M. Paruelo, "Characterizing fragmentation in temperate South America grasslands", Agriculture Ecosystems and Environment 2006, pp 197-208.
4. A. Blanco-García, C. Sáenz-Romero, C. Martorell, P. Alvarado-Sosa "Nurse-plant and mulching effects on three conifer species in a Mexican temperate forest", *Ecological-Engineering* 2011 pp:994-998.
5. J.C. Doran, D.J. Boland, J.W. Turnbull, B.V, "Manual sobre semillas de la familia fabaceae de zonas secas, depósito de documentos de la FAO", 1983.
6. J. Rzedowski, "Vegetación de México" Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México, 1ra. Edición digital, 2006, pp. 200-214.

SÍNTESIS MULTICOMPONENTES, PURIFICACIÓN, CARACTERIZACIÓN POR RMN DE ¹H, ¹³C Y DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE DERIVADOS DE BENZIMIDAZOL 1,2-DISUSTITUIDOS

Jacqueline Nevárez Barrera, Itzia Irene Padilla Martínez, Efrén Venancio García Báez

Instituto Politécnico Nacional
UPIBI-Laboratorio de Química Supramolecular y Nanociencias.

RESUMEN

Los benzimidazoles y sus derivados están presentes en diversos compuestos con actividad farmacológica como lo son: antihistamínicos, antialérgicos, antipiréticos, antivirales, antiparasitarios, y antitumorales¹. Una reacción multicomponente (SMC) se define como un proceso en el cual tres o más reactivos para formar un aducto a través de un único mecanismo. En estas reacciones el producto final se obtiene utilizando una propuesta multietapa con formación de un solo enlace en cada paso. El proyecto presentado tiene como objetivo general sintetizar benzimidazoles 1,2- disustituídos con posible actividad farmacológica a través de la síntesis multicomponentes. Tras haber realizado la síntesis, se utilizan técnicas de cromatografía en placa fina, en columna y se caracterizan por Resonancia Magnética Nuclear de ¹H y ¹³C en solución. Al obtener la molécula pura, se procederá a llevar a cabo estudios de difracción de Rayos X de monocristal con la finalidad de obtener la estructura molecular cristalina correspondiente y realizar un análisis en la red cristalizada de las diferentes interacciones intermoleculares presentes de las moléculas en el cristal.

INTRODUCCIÓN

Los derivados de benzimidazoles son una clase muy importante de compuestos heterocíclicos debido a sus propiedades farmacológicas y son utilizados en programas de descubrimiento agroquímico. Los benzimidazoles 1,2-disustituídos representan una amplia gama de esta familia. Se han usado como antidiabéticos, antihistamínicos, analgésicos, antivirales, antifúngicos y con aplicaciones antiparasitarias.

Los métodos clásicos y más comunes para formar benzimidazoles involucran la condensación de benceno-1,2-diaminas con aldehídos, ácidos carboxílicos o sus derivados (figura 1, ruta a) bajo condiciones muy ácidas/alta temperatura usando un oxidante estequiométrico

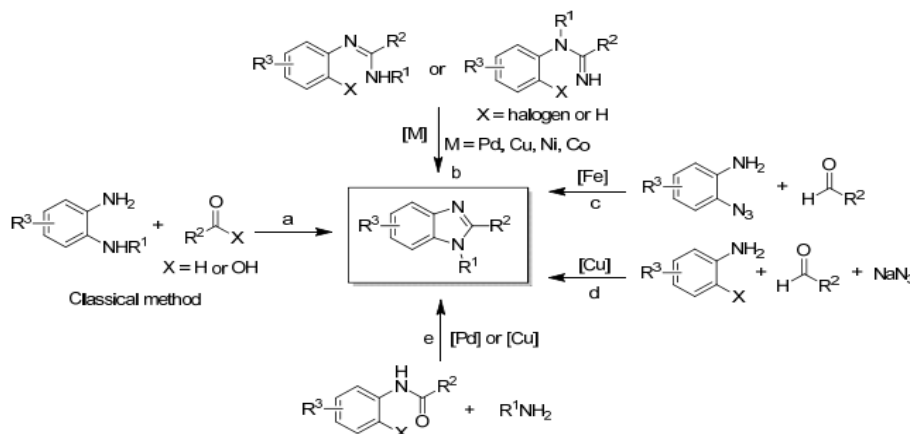


Figura 1. Métodos disponibles para formar derivados de benzimidazoles

A pesar del número de métodos de síntesis de 1- ó 2-benzimidazoles monosustituídos, la formación de 1,2- benzimidazoles disustituídos aún encuentra retos en la selección regioisométrica, incremento de la eficiencia y generalidades de mejora.

La mayoría de estos protocolos involucran múltiples pasos de transformaciones sintéticas, alto costo y poca disponibilidad de materia prima.

Se desea entonces describir una simple reacción de un paso multicomponente para acceder a este sistema de anillos bajo condiciones neutras libres de metales (figura 2).

La síntesis propuesta consiste en (i) acoplamiento de una amina primaria con 1-fluoro-2-nitrobenzenceno por sustitución nucleofílica aromática, (ii) reducción del nitroareno acoplado por ditionitode sodio, y (iii) ciclización de la diamina correspondiente usando un aldehído.

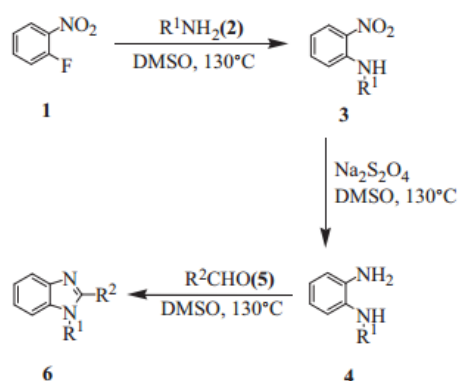


Figura 2. Estrategia para la síntesis de 1,2-benzimidazoles disustituídos.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales

Matraces bola 250 MI
Vaso de precipitados
Embudo
Papel filtro
Embudo de separación
Agitadores magnéticos
Refrigerantes
Parrillas de agitación
Mantas calefactoras

Reactivos

Ácido 4-nitroantranílico
Ácido salicílico
1-fluoro-2-nitrobenzenceno
Metabisulfito de sodio

Disolventes

Acetato de etilo
Acetona
Cloroformo
Metanol
etanol

DESARROLLO EXPERIMENTAL

Síntesis del 1,2 benzimidazol disustituido utilizando salicilaldehído como materia prima.

Una mezcla de 1-fluoro-2-nitrobenzenceno (70.5 mg, 0.5mmol) y ácido 4-nitroantranílico (91 mg,0.5mmol) en 2 ml de DMSO se dejó en reflujo 2 horas a 130 °C. Posteriormente se adicionó Metabisulfito de sodio (142.5mg, 0.75mmol) y salicilaldehído (82.8 mg, 0.6mmol) dejándolo en reflujo una hora más a 130°C. Después se enfrió el sistema y se toman placas cromatográficas, observándose en el crudo de reacción el compuesto de interés. En la figura 3 se describe el esquema de síntesis.

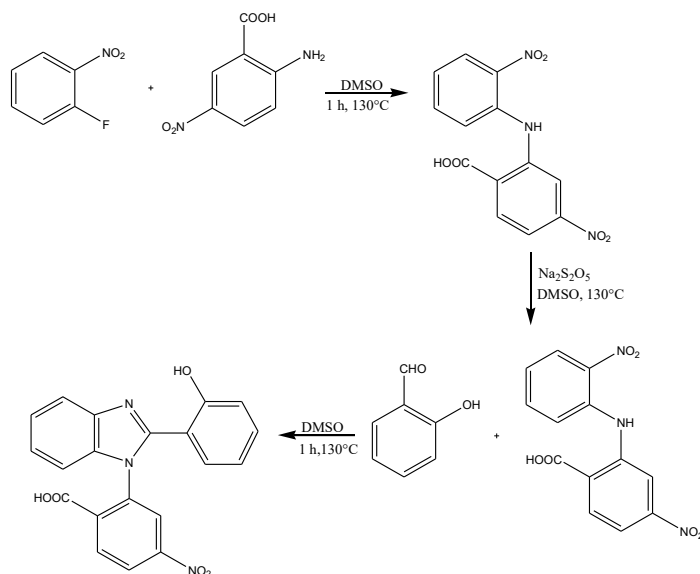


Figura 3. Esquema de síntesis del 1,2-benzimidazol disustituido.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para el producto de interés se realizó espectro de RMN de ¹H figura 4, el cual muestra una señal simple a 10.8 ppm que corresponde al H25 del ácido carboxílico, a 10.2 ppm aparece un señal simple asignada al H22 del fenol de anillo aromático del sustituyente aromático de la posición 2 del benzimidazol. Entre 7 a 8 ppm aparecen señales múltiples de los H aromáticos de los 3 anillos del sistema estudiado.

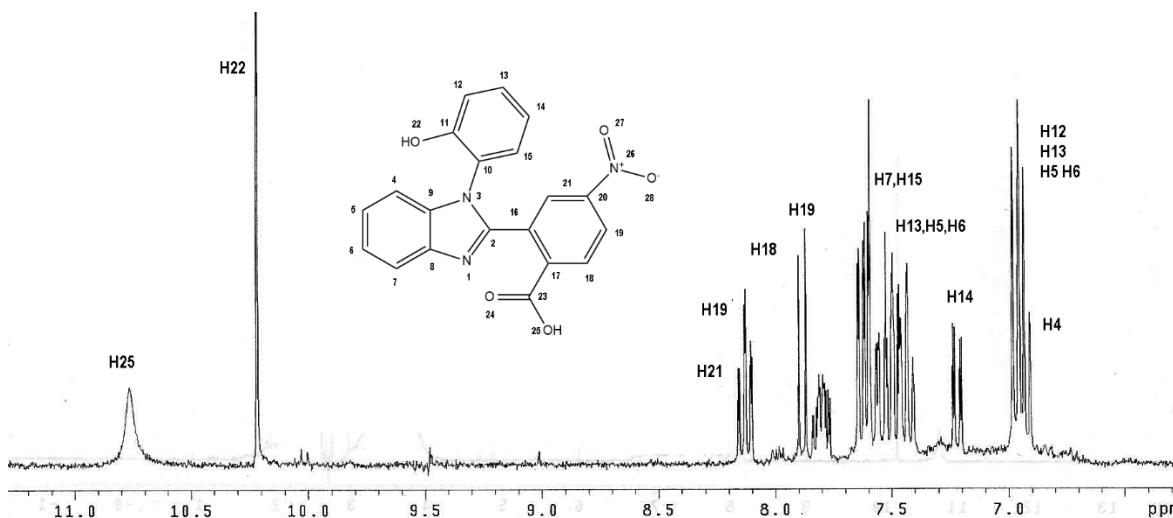


Figura 4. Espectro de RMN de ¹H en DMSO deuterado de la muestra de interés

Con respecto al espectro de RMN de ^{13}C aparece una señal de carbonilo arriba de 196 ppm (C23), a 168 ppm aparece el carbono base del grupo nitro (C20), las demás señales de los carbonos aromáticos aparecen entre 150 a 110 ppm.

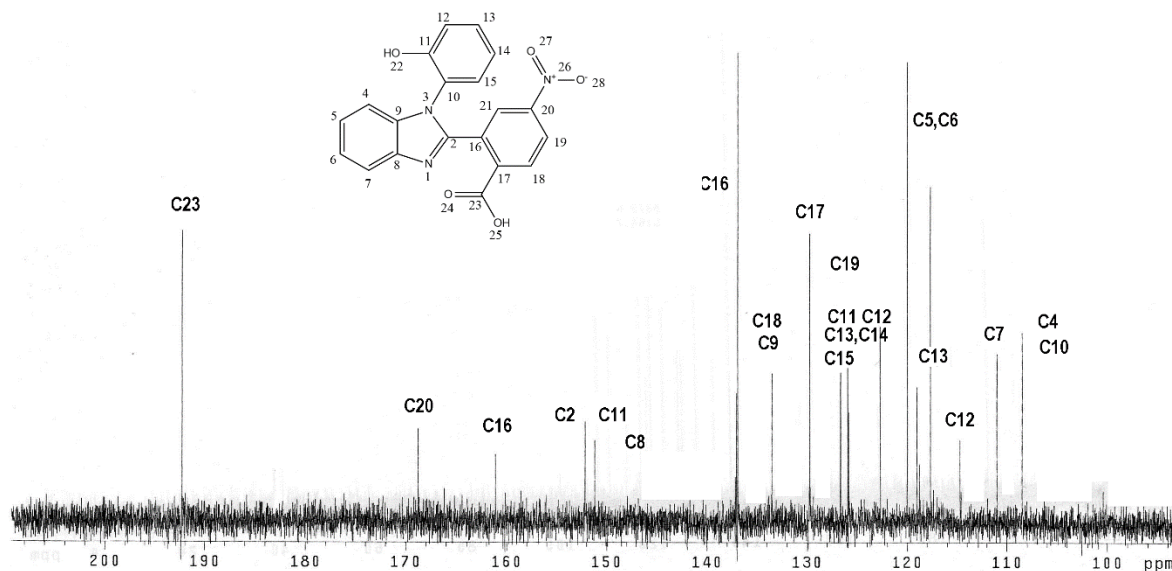


Figura 5. Espectro de RMN de ^{13}C en DMSO deuterado de la muestra de interés.

CONCLUSIONES

Por el momento se ha realizado la síntesis, caracterización de derivados sustituidos de benzimidazol empleando reacciones multicomponentes tomando como base ácido 4-nitro-antranílico, 1-fluoro-2-nitrobenzoceno con salicilaldehído, estando en la etapa de caracterización espectroscópica, también se realizaron varios intentos empleando en lugar de salicilaldehído, ácido salicílico sin tener éxito. La formación del heterociclo parece no llevarse a cabo con ácidos carboxílicos proponiendo entonces el uso de moléculas con un grupo funcional aldehído.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Secretaria de Investigación y Posgrado del Instituto Politécnico Nacional por el presupuesto otorgado al proyecto 20160338.

BIBLIOGRAFÍA

1. Roy P., Pramanik A., "One-pot sequential synthesis of 1,2-disubstituted benzimidazoles under metal-free conditions" Departamento de Química, Universidad de Calcuta, 92, A.P.C ELSEVIER, Vol. 54, pp. 5243-5245
2. Chen C., Chen , Li B., Tao J., y Peng J (2012) *Aqueous Synthesis of 1-H-2-Substituted Benzimidazoles via Transition-Metal-Free Intramolecular Amination of Aryl Iodides. Molecules*, 17, 12506-12520.

LA INACTIVACIÓN DE LOS RECEPTORES GABAA SE RELACIONA A LA RESPUESTA AL ESTRÉS TÉRMICO EN EL ORGANISMO MODELO CAENORHABDITIS ELEGANS

Gabriela Camargo-Hernandez, Rocío Montoya-Pérez, María Luisa Mendoza-Magaña, Mario A. Ramírez-Herrera, Araceli Castillo-Romero, Abel Hernández-Chavez y Leonardo Hernandez

Centro Universitario de Ciencias de la Salud. Universidad de Guadalajara,
Institución de adscripción B Instituto de Investigaciones Químico Biológicas. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

RESUMEN

Los mecanismos que subyacen la resistencia al estrés oxidativo (EO) no están completamente claros. *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) es un buen organismo modelo para estudiar EO, porque muestra respuesta al estrés similar a los de los mamíferos. Entre estos mecanismos, la vía de señalización de la insulina/IGF-1(IIS) se cree que afecta a la neurotransmisión GABAérgica. El objetivo de este estudio fue determinar la influencia del choque de calor (HS) sobre la actividad GABAérgica en *C. elegans*. Para este propósito en Gusanos N2 Wild-type probamos el efecto de la exposición a Picrotoxina (PTX), GABA, H₂O₂ y HS sobre la incidencia de la respuesta de encogimiento (SR) después del estímulo de toque a la nariz (nose touch). Además en la cepa EG1653 observamos el efecto del HS sobre la expresión de la proteína UNC-49 (receptor ortólogo del GABAA) y en la cepa TJ375 analizamos el efecto de la exposición a GABA y PTX sobre la expresión de la proteína HSP-16.2. En la exposición a PTX 1mM o 0.7 mM de H₂O₂ los gusanos mostraron una SR en cerca del 80% de los ensayos. La exposición a GABA no causó una SR. El HS estimuló la ocurrencia de una SR como lo hicieron la exposición a PTX 1 mM o H₂O₂ 0.7 mM. Además, el HS aumentó la expresión de UNC-49, y la PTX aumentó la expresión de HSP-16.2. De este modo, los resultados de este estudio, sugieren que el EO, ya sea a través de la exposición a H₂O₂ o la aplicación de HS, inactiva el sistema GABAérgico, el cual consecuentemente afecta la respuesta al EO, probablemente, realzando la actividad de los factores de transcripción DAF-16 y HSF-1, ambos regulados por la vía IIS, y relacionadas a la expresión de *hsp-16.2*.

INTRODUCCIÓN

La presencia de especies reactivas de oxígeno, conocidas como pro-oxidantes, es un atributo de la vida aeróbica normal. La luz del sol (exposición a rayos UV), el humo, el ozono y otros contaminantes del medio ambiente (fotoquímicos, el humo de cigarrillo, herbicidas) son las causas adicionales de la formación de radicales libres. El estrés oxidativo es el resultado de un desbalance en el equilibrio pro-oxidantes-antioxidantes, siempre en favor de los pro-oxidantes. El estrés oxidativo se encuentra asociado a toda una serie de patologías que inician de manera solapada, estas patologías presentan un curso crónico, son invalidantes y extremadamente costosas. Entre ellas se encuentran el Envejecimiento precoz, la Aterosclerosis, enfermedades neurodegenerativas como: Parkinson, Alzheimer, Esclerosis Amiotrófica Lateral y otras como la Diabetes Mellitus y el Cáncer. [1]

MARCO TEÓRICO

El estrés es un repentino cambio ambiental que induce daño a nivel molecular, celular y del organismo entero [2]. Sin embargo, también induce una respuesta adaptativa que usualmente compensa al daño [3]. Este es un efecto benéfico del estrés que habilita al organismo para hacer frente a un estrés más severo en el futuro. Esta capacidad es llamada tolerancia al estrés. Sin embargo, si el daño supera a la adaptación, induce una declinación funcional, llamado estrés negativo [2]. Así pues, un estímulo estresante puede estar involucrado en la patofisiología básica que subyace a enfermedades específicas. En este sentido, existe evidencia que apoya la existencia de una conexión entre el estrés y las enfermedades mentales y neurodegenerativas. Gilad y Gilad [4] han sugerido un vínculo entre la intensidad de la respuesta al estrés, la velocidad de neurodegeneración dependiente de la edad, y la esperanza de vida. Se ha propuesto que una hiperactividad inherente a estresores está ligada a una vida más corta y a una acelerada neurodegeneración dependiente de la edad [5].

En el cerebro ocurren cambios moleculares, estructurales y funcionales en respuesta al estrés o durante el envejecimiento. De este modo, las neuronas pueden sucumbir a cascadas neurodegenerativas o pueden

adaptarse a estos cambios, empleando mecanismos múltiples para mantener la integridad de los circuitos nerviosos, facilitando las respuestas a demandas ambientales y/o promoviendo la recuperación de la función después del daño [6]. Estos mecanismos incluyen la producción de factores neurotróficos y citoquinas; la expresión de varias proteínas que promueven la sobrevivencia celular (es decir, proteínas chaperonas, enzimas antioxidantes, Bcl-2 y proteínas inhibidoras de la apoptosis), la preservación de la integridad genómica por la telomerasa y proteínas para reparar el ADN (Ácido Desoxirribonucleico), así como la movilización de células nerviosas troncales para reemplazar a las neuronas y a las células de la glía dañadas. Las células troncales neurales que residen en el cerebro adulto son también sensibles a demandas ambientales y parecen capaces de reemplazar neuronas perdidas o disfuncionales, quizás aún en el cerebro en envejecimiento [7]. Por otro lado, existen mecanismos protectores del daño que pueden ser reforzados por la dieta (restricción calórica y suplementación con ácido fólico y antioxidantes) y por modificaciones en la conducta (actividades intelectuales y físicas). A nivel celular y molecular, la protección puede ser facilitada activando una respuesta de hormesis en la cual las neuronas incrementan la producción de factores neurotróficos y proteínas del estrés.

Receptores GABA y *C. elegans*

C. elegans es uno de los organismos relativamente más simples; su sistema nervioso está constituido por 302 neuronas lo que permite ser usado como modelo animal en estudios genéticos y fisiológicos. *C. elegans* es un nemátodo de vida libre de 1mm de longitud y habita climas templados (18 - 22°C). Ha sido usado como modelo de estudio para la biología, genética del desarrollo y neurofisiología, entre otros. El desarrollo ontogénico de cada célula neural ha sido caracterizado [8], y se conoce el arreglo casi invariable de sus 5000 sinapsis químicas y 2000 uniones neuromusculares [9]. Su sistema nervioso relativamente simple sustenta algunas conductas que han sido estudiadas cuantitativamente [10].

Neuronas GABAérgicas en *C. elegans*

El marcaje del sistema nervioso del *C. elegans* con anticuerpos contruados contra el neurotransmisor ácido gamma-aminobutírico ha revelado que 26 de las 302 neuronas presentes en *C. elegans* expresan el neurotransmisor GABA (Figura 1).

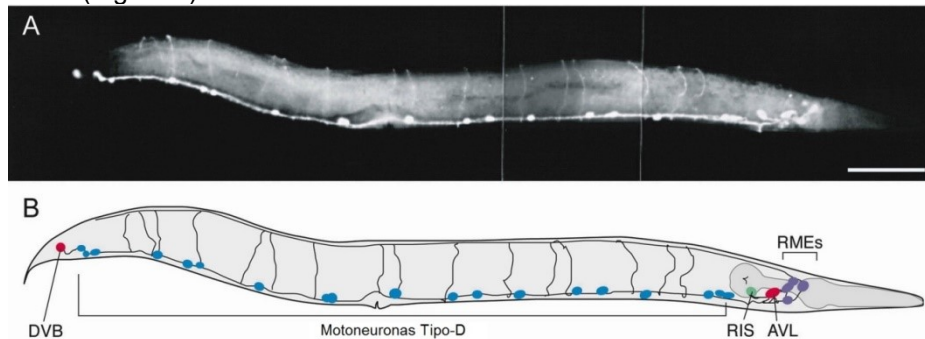


Figura 2. El sistema nervioso GABAérgico. (A) microfotografía fluorescente de un *C. elegans* hermafrodita adulto teñido con anticuerpo antiGABA. Se muestran las 26 neuronas teñidas para GABA. En el lado derecho de la imagen se observa la parte anterior y lado derecho del *C. elegans*. Barra escala =0.10 mm. (B) Dibujo esquemático de las 3 posiciones de las 26 neuronas que contienen GABA. Las motoneuronas DD y VD inervan los músculos del cuerpo, las neuronas RME inervan los músculos de la cabeza, las AVL y DVB inervan los músculos entéricos, y la neurona RIS es una interneurona [11].

METODOLOGÍA

Se utilizaron la cepas Bristol N2 (tipo salvaje) y la cepa TJ375 [hsp-16-2::GFP (gpls1)] que fueron proporcionados por el Caenorhabditis Genetics Center (Minneapolis, MN, EE.UU.). Todos los experimentos se llevaron a cabo en gusanos adultos sincronizados de 1 día cultivados a 20°C en placas de Petri con Agar NGM con bacterias *E. coli* de la cepa OP50 como fuente de alimento, según métodos estándar (Hope 2000).

Estrés por choque térmico. Para el protocolo de estrés por choque térmico, se transfirieron 30-40 gusanos adultos a placas de Petri de 35 mm con alimento y se sometieron a una temperatura 34°C durante 1 hora.

Posteriormente los animales se dejaron reposar durante un período de 4 horas a 20°C antes de la siguiente etapa experimental.

Ensayo de peróxido de hidrógeno. Los gusanos adultos de una cepa WT se transfirieron a una placa de 24 pocillos con un promedio de 20 animales por pocillo. En el tiempo cero, se añadieron a los pocillos 4 concentraciones de peróxido de hidrógeno (desde 0 a 0,7 mM) diluido en buffer M9 para un volumen final de 2 ml. Después de 30 minutos, se anotó el número total de animales y el número de animales que presentaban respuesta de encogimiento para cada pocillo.

Exposición de Fármacos. Los fármacos utilizados en este estudio (Picrotoxina y GABA) se diluyeron en buffer M9 y los ensayos se realizaron en placas de 24 pocillos para probar los efectos de varias dosis. El volumen final en cada pocillo fue 2 ml de diferentes diluciones de fármacos o 2 ml de tampón M9 (control). 50 gusanos adultos de un día fueron transferidos a cada pozo. El tiempo de exposición fue de 4 horas a 20° C y sin fuente de alimento [12].

Conducta motora. Respuesta de encogimiento (SR). Esta respuesta fue evocada empleando el ensayo de "toque a la nariz" que induce un movimiento hacia atrás acoplado con la supresión de movimientos de cabeza de forrajeo seguido de un encorvamiento ventral profundo (vuelta omega) y un cambio en la dirección de locomoción de 180° [13]. Este ensayo se probó tocando a un animal con una ceja en el bulbo posterior de la faringe de un animal que se desplazaba hacia delante, como describen Chalfie y Sulston [14]. Normalmente, un ensayo se califica como un éxito cuando los animales detienen la locomoción hacia adelante o inician el movimiento hacia atrás siguiendo el estímulo. Sin embargo, en nuestro caso, buscamos una falla en el sistema GABAérgico, por lo que fue calificado como un éxito cuando encontramos una respuesta de encogimiento. Los ensayos se llevaron a cabo anotando el número de respuestas de encogimiento por cada diez ensayos de toque a la nariz (% de respuesta) como se describió previamente [15].

Microscopia epi-fluorescente. Nuestro propósito en el uso de las cepas transgénicas, fue detectar las proteínas UNC-49 y HSP-16.2 fusionada a GFP con la evaluación visual no invasiva a través de la cuantificación de la intensidad de fluorescencia, teniendo en cuenta la transparencia óptica de *C. elegans*. Todas las imágenes de Epi-fluorescencia fueron capturadas a tiempos de exposición constantes utilizando un objetivo 20X de un Microscopio invertido Olympus IX71 con cámara digital (Olympus Corporation, Tokio, Japón). Las imágenes fluorescentes se procesaron con el software Image Pro Plus 6.0 (Media Cybernetics, Bethesda, MD, EUA) (Strayer et al., 2003). Todos los valores obtenidos se normalizaron a la media de control sin tratar y se expresaron como porcentaje de cambio.

Análisis Estadístico. Los datos se indican como media \pm SEM. El número de determinaciones, n, se indica entre paréntesis. El ANOVA de una vía y el test t de Student se utilizaron para evaluar la significación estadística de los promedios no pareados. $P < 0,05$ se consideró significativo. Para el análisis estadístico, se utilizó el software Sigma Plot 11.0.

RESULTADOS

La exposición a picrotoxina y H₂O₂ aumenta la Respuesta de encogimiento (SR) de una manera dependiente de la dosis

En el grupo CTL no se observó la SR. En la figura 2 se observa un incremento progresivo de SR, lo cual es un efecto dependiente de las diferentes dosis de Picrotoxina, Utilizando concentraciones de 0,1 a 1000 μ M. Esta curva dosis-respuesta mostró una EC50 de 283,9 μ M, y desde 100 μ MPTX, la SR estuvo presente en el $32 \pm 5,3\%$ de los ensayos. Aún, con la dosis mas alta (1000 μ M)se evidenció que en el $82 \pm 6,3\%$ de los ensayos la SR estuvo presente. Asimismo, en la exposición al peróxido de hidrógeno (H₂O₂) también se observó un incremento en la SR de una manera dependiente de la dosis, con una EC50 de 0.543 mM, y en la concentración de 0.7 mM de H₂O₂ Los gusanos expuestos mostraron SR en el 80% de los ensayos (Fig. 1b).

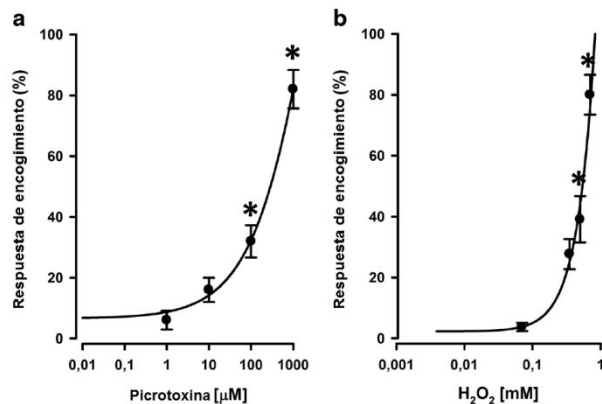


Fig 2. La Picrotoxina y el peróxido de hidrógeno incrementa la respuesta de encogimiento después del nose touch in el *C. elegans*. **a)** Porcentaje de Respuesta de encogimiento en *C. elegans* expuestos a diferentes dosis de Picrotoxina y **b)** *C. elegans* expuestos a diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno. (n = 90 ensayos por grupo *P < 0.05 vs gusanos no-expuestos)

El choque térmico provocó un incremento en la respuesta de encogimiento, comparable al efecto inducido por picrotoxina 1 mM o 0.7 mM H₂O₂, y el GABA redujo SR en gusanos expuestos al H₂O₂

La respuesta de encogimiento estaba presente en 83,6 ± 4,4% de ensayos en gusanos tratados con N2 de choque térmico. Este resultado no fue significativamente diferentes (ANOVA de 1-vía, p> 0,7, Figura 3A) con los de gusanos expuestos a 1 mM de PTX (82 ± 6,3% de los ensayos) o 0,7 mM H₂O₂ (80 ± 6,5% de los ensayos). También se probó el efecto de la administración de GABA exógeno (10, 100 y 1000 μM) en el ensayo de toque a la nariz, donde los gusanos expuestos mostraron una locomoción hacia atrás normal en más del 90% de los ensayos y no se observó la SR, sin embargo, en el 10% de los ensayos, no se detectó ninguna respuesta al toque a la nariz a 10 y 100 μM de GABA, aunque la capacidad de respuesta no fue significativamente diferente de la exhibida por los gusanos control (ANOVA de 1-vía, p> 0,6, Figura 3B). Por otro lado, los gusanos N2 que fueron co-expuestos a 0,5 mM H₂O₂ y 100 μM GABA mostró una baja aparición de SR (17,7 ± 5% de los ensayos) en comparación con los expuestos únicamente a 0,5 mM H₂O₂ (39,1 ± 7,6% de Ensayos). Esto implica que el GABA redujo significativo en un 45,2% el número de eventos de SR inducidos por oxidación (prueba T de Student, p <0,02, figura 3C).

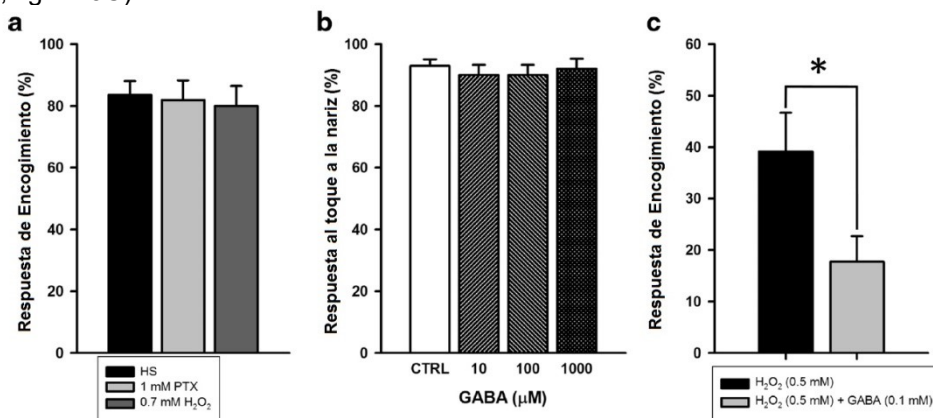


Fig. 3. La respuesta al encogimiento (SR) resulta de un deterioro en el sistema GABAérgico. **a).** Comparación de efectos de tratamientos de choque térmico, PTX 1 mM, y H₂O₂ 0,7 mM en la SR en el *C. elegans*. **b).** Efecto del GABA sobre la respuesta del toque a la nariz (nose touch). **c).** Porcentaje de SR en gusanos tratados y no tratados con GABA, expuestos a H₂O₂. (n = 90 ensayos por grupo, *P<0.05).

La exposición a Picrotoxina incrementó la expresión de la proteína HSP-16.2.

Gusanos TJ375 se dividieron en cuatro grupos: un grupo de gusanos no sometido al protocolo de choque térmico n expuesto a picrotoxina (grupo CTL); Un grupo de animales fue sometido a un choque térmico durante 1 hora a

34°C (grupo HS); Un grupo de gusanos fue sometido a una hora de exposición a PTX (grupo PTX), y finalmente un grupo de gusanos que fue expuesto a picrotoxina y sometido a estrés por choque térmico (grupo PTX + HS). Después de la recuperación (4 horas a 20°C) se capturaron y analizaron microfotografías de epi-fluorescencia de acuerdo con el protocolo de Microscopía de Fluorescencia mencionado en los Métodos, pero con la singularidad que en este caso sólo esbozamos la faringe porque en esta área la HSP-16.2::GFP intensidad de fluorescencia es más perceptible, aunque por lo general se puede ver en todo el gusano [16].

Como era de esperarse, el grupo HS presentó un incremento de $67,9 \pm 9,2\%$ en la expresión de HSP-16.2::GFP en relación al grupo CTL ($P < 0,0001$, prueba t de Student). Por otra parte, se observó un notable aumento en la expresión de HSP-16.2::GFP en el grupo PTX ($217,5 \pm 12,4\%$) y el PTX + HS grupo ($197,2 \pm 11,3\%$) con respecto a los CTL y HS grupos (figura 4A). En estos casos, estas diferencias fueron estadísticamente significativas (ANOVA de una vía, $P < 0,001$), pero al mismo tiempo, los grupos PTX y PTX + HS no fueron significativamente diferentes entre sí ($P > 0,22$, prueba t de Student). En la Figura 4B se muestran microfotografías representativas de epi-fluorescencia de todos los grupos de estudio (CTL, HS, PTX y PTX + HS).

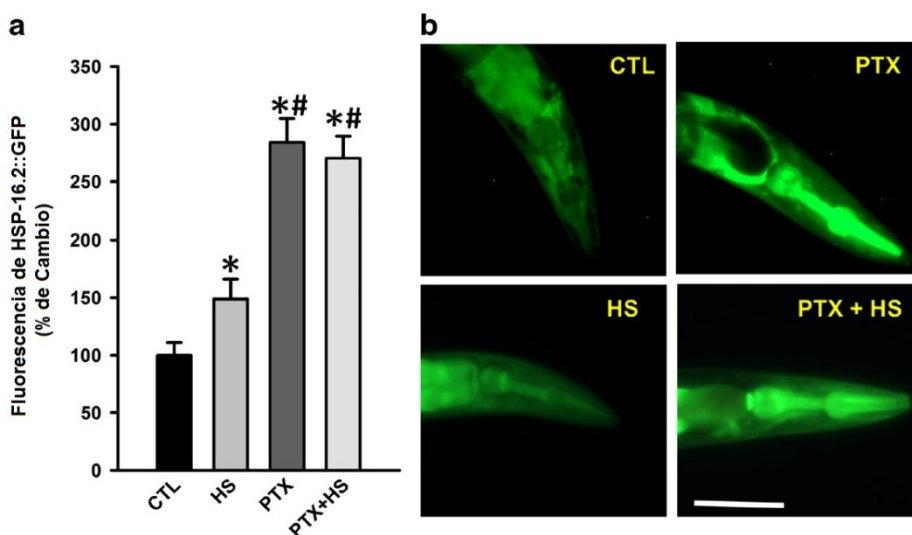


Fig. 4. La Picrotoxina aumenta la expresión de HSP-16.2::GFP evaluada mediante su intensidad de fluorescencia en gusanos TJ375. **a)** Gráfico de la intensidad de fluorescencia de HSP-16.2::GFP en gusanos control (CTL), gusanos sometidos a HS, gusanos expuestos a PTX, y gusanos expuestos a PTX+HS. (n = 20 gusanos por grupo, * $P < 0.001$ vs CTL grupo y # $P < 0.001$ vs grupo HS). **b)** Microfotografías fluorescentes (20×) de *C. elegans* TJ375: gusanos (CTL), gusanos sometidos a protocolo de choque térmico (HS), gusanos expuestos a Picrotoxina (PTX) y gusanos expuestos a la Picrotoxina y al protocolo de choque térmico (PTX + HS). La barra de escala representa 100 μm. La expresión más fuerte de la proteína HSP-16.2::GFP en la cepa TJ375 se encuentra en el área de la faringe.

CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio sugieren que el estrés oxidativo, inducido mediante la exposición al H_2O_2 o la aplicación de un choque térmico (HS) inactiva al sistema GABAérgico, el cual subsecuentemente afectaría la respuesta al estrés oxidativo, quizás incrementando la actividad de los factores de transcripción DAF-16 y HSF-1, ambos regulados por la vía de señalización de la insulina/IGF-1(IIS) y relacionados con la expresión de la proteína de respuesta a choque de calor HSP-16.2.

BIBLIOGRAFÍA

1. 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.

2. Soti, C. and P. Csermely, *Protein stress and stress proteins: implications in aging and disease*. J Biosci, 2007. **32**(3): p. 511-5.
3. Calabrese, E.J., *The failure of dose-response models to predict low dose effects: a major challenge for biomedical, toxicological and aging research*. Biogerontology, 2006. **7**(2): p. 119-22.
4. Gilad, G.M. and V.H. Gilad, *Strain, stress, neurodegeneration and longevity*. Mech Ageing Dev, 1995. **78**(2): p. 75-83.
5. Esch, T., et al., *The role of stress in neurodegenerative diseases and mental disorders*. Neuro Endocrinol Lett, 2002. **23**(3): p. 199-208.
6. Morimoto, R.I., *Stress, aging, and neurodegenerative disease*. N Engl J Med, 2006. **355**(21): p. 2254-5.
7. Mattson, M.P., S.L. Chan, and W. Duan, *Modification of brain aging and neurodegenerative disorders by genes, diet, and behavior*. Physiol Rev, 2002. **82**(3): p. 637-72.
8. Sulston, J.E., et al., *The embryonic cell lineage of the nematode *Caenorhabditis elegans**. Dev Biol, 1983. **100**(1): p. 64-119.
9. 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.
10. Bettinger, J.C., et al., *The use of *Caenorhabditis elegans* in molecular neuropharmacology*. Int Rev Neurobiol, 2004. **62**: p. 195-212.
11. Jorgensen, E.M., *GABA in WormBook*, J.M. Kaplan, Editor. 2005, The *C. elegans* Research Community.
12. Bamber, B.A., et al., *The composition of the GABA receptor at the *Caenorhabditis elegans* neuromuscular junction*. Br J Pharmacol, 2005. **144**(4): p. 502-9.
13. Pirri, J.K. and M.J. Alkema, *The neuroethology of *C. elegans* escape*. Curr Opin Neurobiol, 2012. **22**(2): p. 187-93.
14. Chalfie, M. and J. Sulston, *Developmental genetics of the mechanosensory neurons of *Caenorhabditis elegans**. Dev Biol, 1981. **82**(2): p. 358-70.
15. 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.
16. Link, C.D., et al., *Direct observation of stress response in *Caenorhabditis elegans* using a reporter transgene*. Cell Stress Chaperones, 1999. **4**(4): p. 235-42.

DETECCIÓN COLORIMÉTRICA DE IONES METÁLICOS PRESENTES EN AGUA USANDO IMINAS

Areli Paulina López Cervantes, Mario A. Rodríguez Rivera

Loma del Bosque 103 Col Lomas del Campestre C.P 37150, Centro de Investigaciones en Óptica, A.P. 1-948, 37150, León, Gto. México, areli_p15@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

La búsqueda de nuevas metodologías para la detección y cuantificación de iones metálicos disueltos en agua, las cuales sean de fácil uso y de un costo menor a las metodologías actuales, resulta un tema científico de vital importancia. La presencia de contaminantes en el agua es un problema de salud, dicha contaminación es debida a las actividades humanas, así como los procesos industriales que contribuyen en gran medida con contaminantes tales como pesticidas, fertilizantes, derivados de petróleo, productos químicos, residuos industriales, plásticos, productos usados para el hogar, entre muchos otros. De los contaminantes que pueden estar presentes en el agua de ríos y lagos, los iones metálicos resaltan debido a los grandes problemas de salud que provocan cuando son consumidos por el ser humano. Entre los iones metálicos que presentan los mayores problemas de salud están: plomo, mercurio, cadmio, níquel, vanadio, cromo, cobre, aluminio, arsénico y plata. Por lo tanto, resultan de vital importancia el desarrollo de métodos eficientes que detecten de manera sencilla la existencia de iones metálicos en muestras biológicas o en el ambiente. Varios métodos analíticos han sido desarrollados para detectar iones metálicos incluyendo espectrometría de masas de plasma acoplado (ICP-MS)¹, espectroscopia atómica de plasma acoplado (ICP-AES)², espectroscopia de absorción atómica (ASS)³, etc. Sin embargo, la mayoría de esas técnicas requieren de un complicado pretratamiento de las muestras, instrumentación costosa y sofisticada. Dicha situación promueve la búsqueda de sensores colorimétricos y fluorimétricos que de manera rápida y efectiva puedan indicar la presencia de uno o varios metales en el agua.

Dentro de los compuestos orgánicos que se han empleado para el desarrollo de sensores colorimétricos están las bases de Schiff o también llamadas iminas. Estas moléculas son de fácil síntesis, se requiere de aminas primarias con aldehídos o cetonas, en particular cuando se utilizan anilinas y derivados de benzaldehído se da lugar a la formación a iminas aromáticas que tienen bandas de absorción en la región del visible. Estos sistemas tienen la habilidad de funcionar como ligantes de metales, por la formación de enlaces de coordinación entre el átomo de nitrógeno y un ion metálico, lo cual produce un cambio en sus propiedades ópticas. Dicha característica de estos compuestos se emplea para el desarrollo de posibles sensores colorimétricos de iones metálicos⁴.

PARTE EXPERIMENTAL

En el presente trabajo se reporta la síntesis de dos bases de Schiff, la primera (MA02), que fue sintetizada por la reacción de 2-hidroxi-5-clorobenzaldehído con 2-amino benzotiazol obteniéndose un sólido de color amarillo intenso, la segunda (MA03) sintetizada a partir de 2,5-dibromotiofen-3-carboxaldehído con 2-amino-5-clorofenol obteniéndose un sólido color café, ambas iminas fueron obtenidas con buenos rendimientos de aproximadamente el 90%. Las técnicas de espectroscopia infrarroja (IR) y resonancia magnética nuclear (RMN) se usaron para establecer sus estructuras químicas como parte de la caracterización, además se evaluó la estabilidad de ambas moléculas en THF y en agua, posteriormente, para evaluar su posible coordinación con iones metálicos se mezclaron soluciones de las moléculas en tetrahidrofurano (THF) de concentración 1×10^{-3} M, con soluciones acuosas de distintos iones metálicos (Al^{+3} , Co^{+2} , Zn^{+2} , Cu^{+2} , Mn^{+2} , Hg^{+2} , Ni^{+2} y Pb^{+2}) en concentración molar de 1×10^{-3} . Las muestras fueron evaluadas a simple vista y bajo luz UV, posteriormente se tomaron espectros de absorción y emisión de ambas moléculas para evaluar por medio de estas técnicas el comportamiento observado en las muestras.

RESULTADOS

Se sintetizaron dos nuevas iminas aromáticas para las cuales se establecieron sus estructuras por las técnicas de IR (figura 1) y RMN de protón (H^1) (figura 2) y carbón (C^{13}) (figura 3). En los espectros de IR se asignaron las bandas de estiramiento del enlace C=N que confirma la formación de iminas, por otro lado en los espectros de RMN las señales del protón del azometino y la de carbono se consideraron indicativos de la formación de la imina.

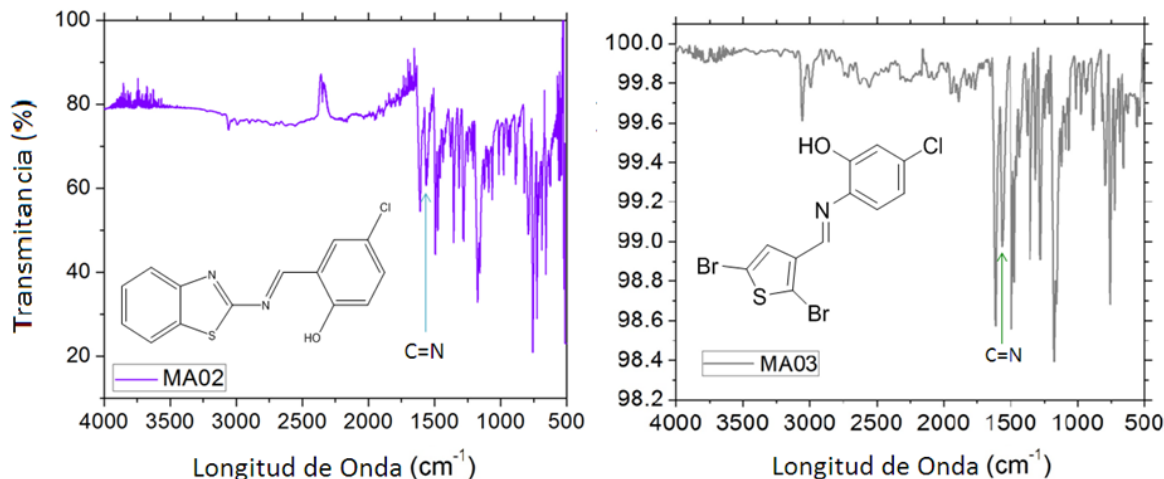
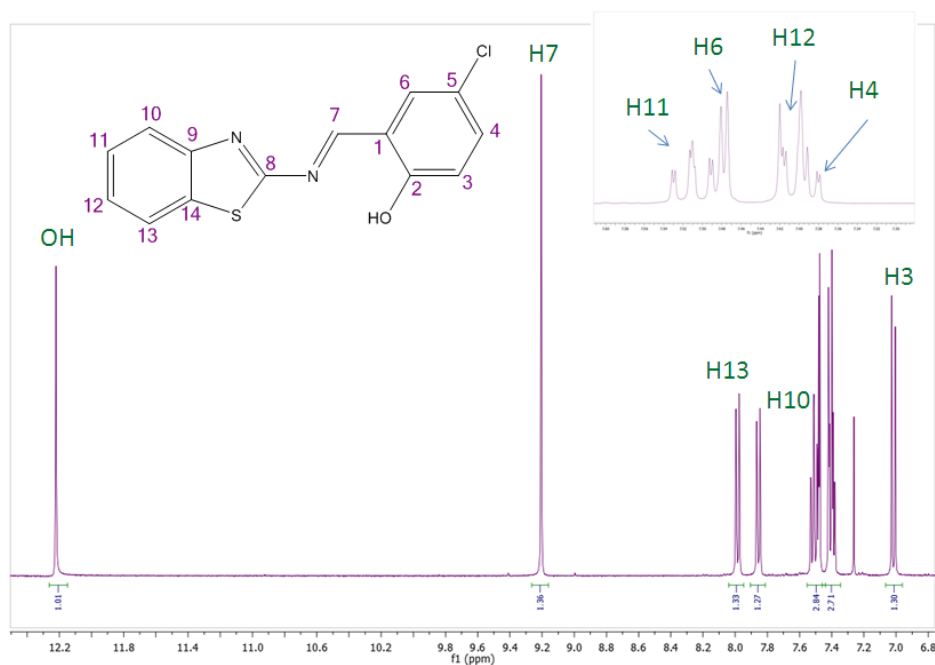


Figura 1. Espectros de IR de MA02 y MA03



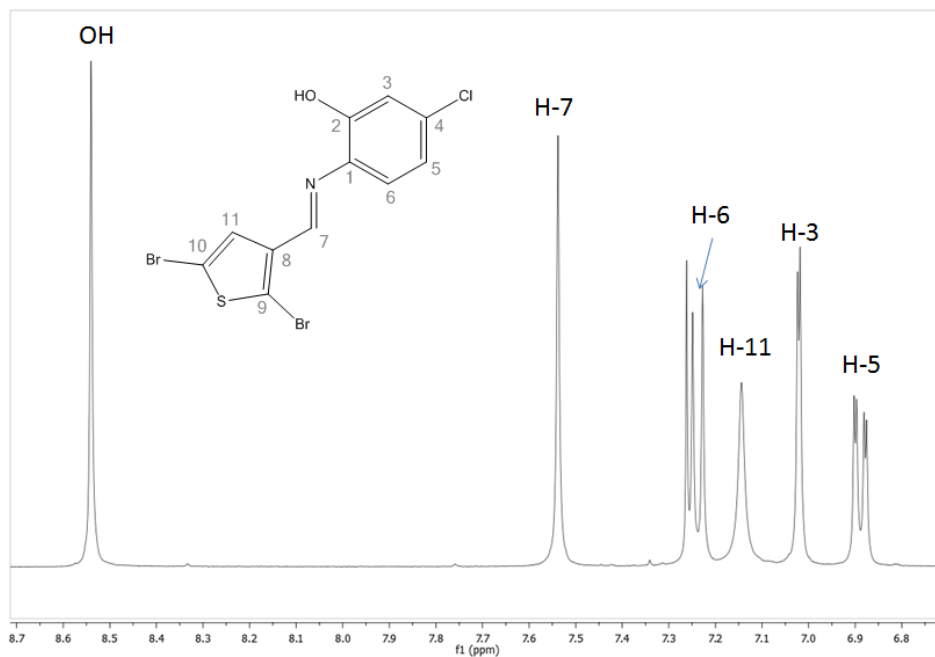
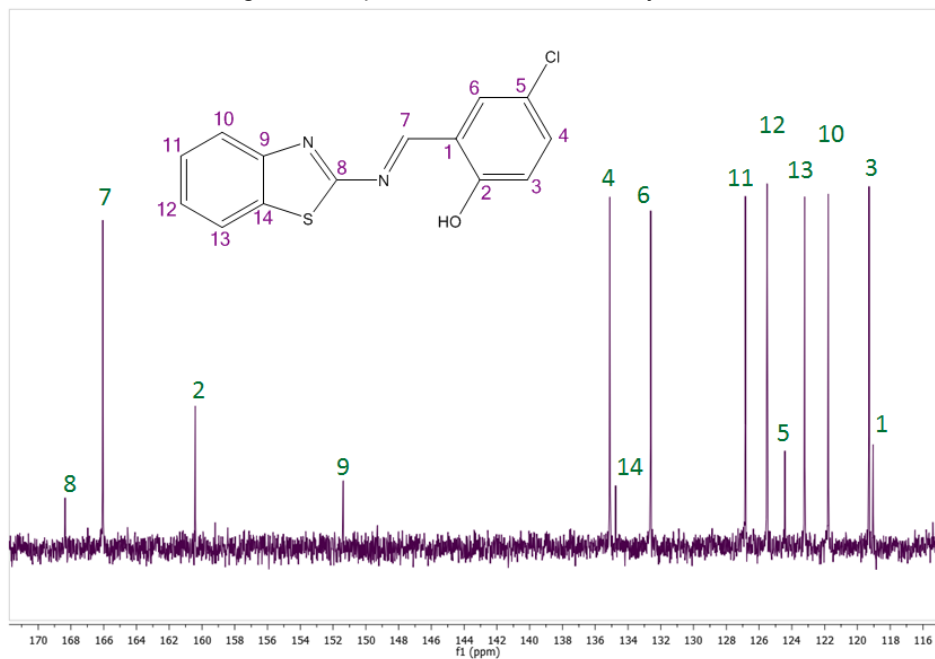


Figura 2. Espectros de H¹ de MA02 y MA03



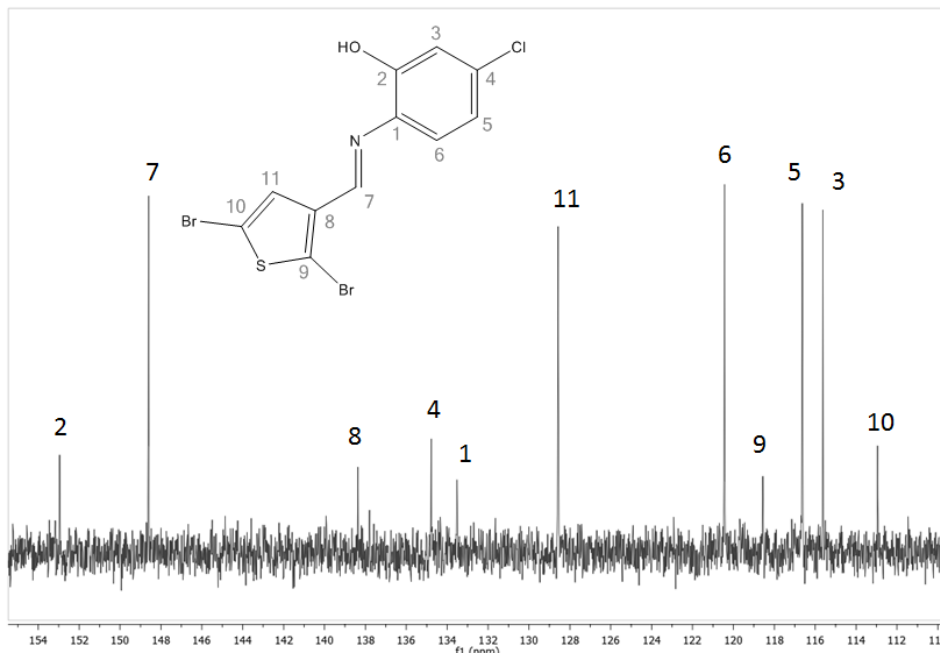


Figura 3. Espectros de C¹³ de MA02 y MA03

Las soluciones del sensor MA02 y MA03 fueron preparadas en agua:THF y son mostradas en la figura 4 y 7 y se etiquetaron como referencia, en particular la imina MA02 presenta una coloración amarilla, mientras que la imina MA03 no tiene color. Los frascos con las muestras preparadas para la evaluación de las moléculas como sensores químicos fueron observadas con luz visible y bajo luz UV, con la finalidad de evaluar un cambio de color o de fotoluminiscencia. Para las muestras de la molécula MA02 todas las muestras presentan coloración amarilla a excepción de las muestras con iones cobre, las cuales no tienen coloración (figura 4), y al ser evaluadas estas bajo luz UV todas las muestras tienen fluorescencia a excepción de la muestra con iones cobre (figura 5).



Figura 4. Fotografía de la prueba de selectividad de MA02 evaluadas a simple vista



Figura 5. Fotografía de las pruebas de selectividad de MA02 evaluadas bajo luz UV

Considerando los resultados de cambio de color que fueron observados, se adquirió para cada una de las muestras su espectro de absorción y por otro lado la fotoluminiscencia mostrada por las muestras se adquirió el espectro de emisión, adquirido con excitación en 405 nm (figura 6).

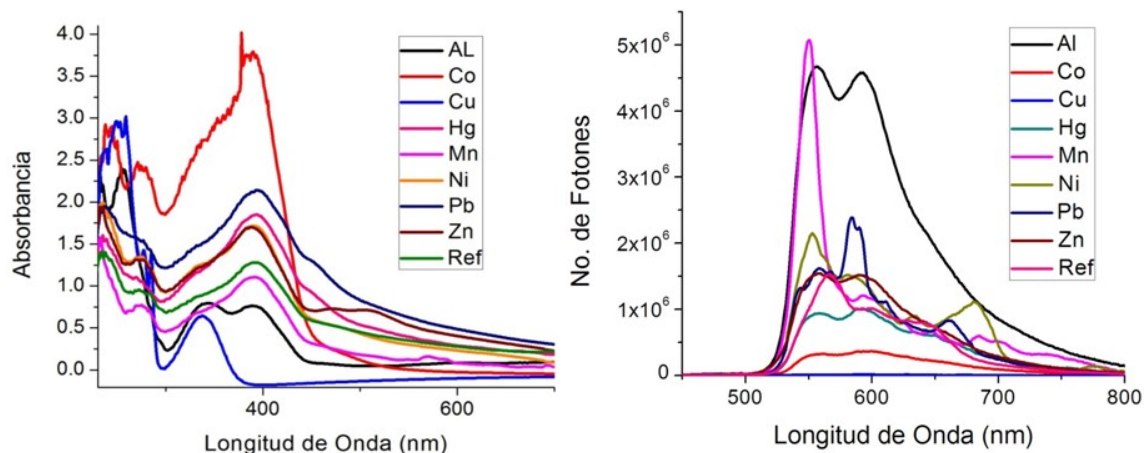


Figura 6. Espectros de absorción y emisión de pruebas de selectividad de MA02

Las mezclas de la molécula MA03 y agua contaminada de iones metálicos muestran una coloración amarilla, exclusivamente las muestras que contienen iones plomo (figura 7), tal como se indicó este cambio de color es selectivo para la presencia de dicho ion metálico, resulta importante mencionar que ésta molécula no muestra fotoluminiscencia.

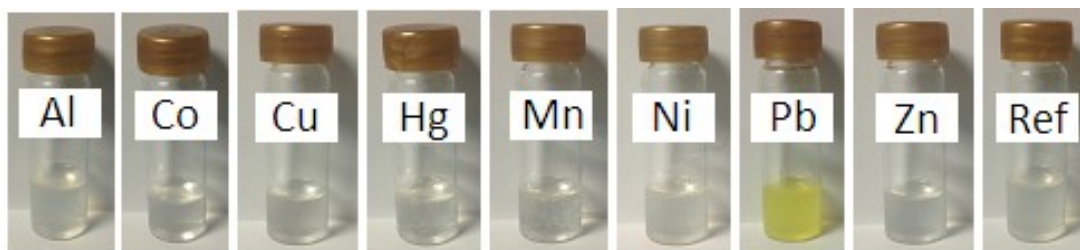


Figura 7. Prueba de selectividad de MA03 evaluadas a simple vista

El cambio de color observado para el sensor basado en MA03 en presencia de iones plomo se corroboró por espectroscopia de absorción, los resultados obtenidos de las pruebas de selectividad de la molécula MA03 se muestran en la figura 8.

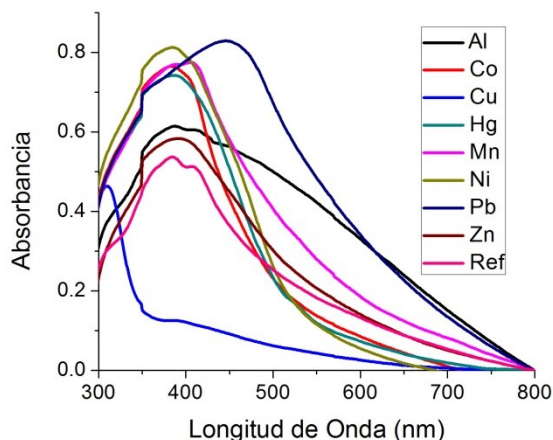


Figura 7. Prueba de selectividad de MA03 evaluadas a simple vista

CONCLUSIONES

Se sintetizaron y caracterizaron dos nuevas bases de Schiff, MA02 y MA03. En particular la imina MA02 cambia selectivamente de color y su fotoluminiscencia para indicar la presencia de iones cobre, en el experimento realizado con MA03 se observó un cambio de color con la presencia de iones plomo. El funcionamiento de estos sensores se basa en la posible coordinación selectiva de la imina con cobre y plomo, dichos resultados proponen el uso de estos compuestos como sensores químicos ópticos. Para corroborar el cambio de color perceptible a simple vista se tomaron los espectros de absorción de ambas moléculas y además el de emisión para MA02.

BIBLIOGRAFÍA

1. Zoriy M.V., Mayer D., Becker J.S., J. Am. Soc. Mass Spectrom. 20 (2009) 883–890.
2. Liu Y., et al., (2016) Selective and sensitive chemosensor for lead ions using fluorescent carbon dots prepared from chocolate by one-step hydrothermal method, *Sensors and Actuators B* 237, 597–604
3. Gonzales A., et al, (2009), *Anal. Chim. Acta* 636 198–204
4. D. Peralta-Domínguez, M. Rodríguez, G. Ramos-Ortiz, J.L. Maldonado, D. Luna-Moreno, M. Ortiz-Gutierrez, V. Barba, *Sensor and Actuators B*, 2016, 225, 221-227.

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE MICROPARTÍCULAS NANOPOROSAS COMO POTENCIALES PORTADORES DE FÁRMACOS

Sayuri Chong-Canto, M. Corea-Téllez, I.I. Padilla-Martínez

Instituto Politécnico Nacional -Laboratorio de Química Supramolecular y Nanociencias UPIBI. Av. Acueducto de Guadalupe S/N, col. Barrio la Laguna, 07340, Ciudad de México.

Instituto Politécnico Nacional ESIQIE, Edificio Z-6, San Pedro Zacatenco, Gustavo A. Madero. Ciudad de México, México.

RESUMEN

Una de las formas de retrasar la acción terapéutica de los fármacos son las nano- y micropartículas poliméricas (NP o MP) funcionalizadas¹. En este trabajo se sintetizaron MPs nanoporosas con metacrilato de metilo funcionalizado con ácido acrílico y reticulados con dimetacrilato de etilenglicol (PAA-PMA-EDGM) para lograr niveles de funcionalización de 20 y 25% y varios grados de entrecruzamiento 0, 0,1, 0,3 y 0,5. Las MP se caracterizaron por luz de dispersión dinámica y estática, que tienen una forma esférica y un tamaño promedio de 300-450 nm a un pH 3 dependiendo de la funcionalización y el grado de entrecruzamiento. Los hidrogeles son sensibles al pH y muestran un comportamiento de hinchamiento dependiente del pH. Después de la liofilización MP mostró BET área en 10-12 m²g⁻¹ rango y un tamaño poroso de 6-8 nm, en el rango de materiales mesoporosos. El objetivo de este trabajo es desarrollar una nueva forma de sistema de administración de fármacos antineoplásicos.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, se han realizado diferentes investigaciones utilizando hidrogeles como plataformas de liberación en las cuales los agentes terapéuticos activos se retienen dentro de las mallas macromoleculares reticuladas y se transfieren al medio de disolución por el hinchamiento del sistema al contacto con fluidos biológicos^(2, 3, 4). La velocidad y el tiempo de liberación pueden controlarse mediante la relación fármaco/polímero o por el grado de reticulación del polímero. Los recientes avances en los métodos de síntesis de hidrogel han causado un nuevo impulso en la aplicación de estos sistemas para el desarrollo de nuevas formas farmacéuticas, en particular de los hidrogeles que presentan un comportamiento de hinchamiento dependiente de las condiciones del medio de liberación^(5, 6, 7). La capacidad de estos materiales para presentar cambios rápidos dependiendo de factores tales como pH, temperatura o fuerza iónica permite la liberación de sustancias activas -incluyendo péptidos y proteínas- de una manera pulsátil o en una región donde se requiere el efecto, con una liberación específica Y mantener márgenes terapéuticos. Teniendo en cuenta que las áreas fisiológicas, como el tracto gastrointestinal, tienen ambientes con pH diferentes, hidrogeles con un hinchamiento dependiente del pH son muy atractivos para el desarrollo de sistemas de liberación controlada^(8, 9). Se cree que esta capacidad de respuesta al pH se debe a la presencia de sustituyentes laterales ionizables en la cadena principal del hidrogel.

Los hidrogeles sensibles a estímulos, que son capaces de responder al cambio ambiental, tienen aplicaciones potenciales en el campo biomédico, especialmente en sistemas de suministro de fármacos específicos del sitio⁽¹⁰⁾. Los polímeros que contienen grupos ácido carboxílico, tales como poli (ácido acrílico) (PAA) y poli (ácido metacrílico) (PMAA), presentan transiciones de protonación-desprotonación dependientes del pH y tienen la capacidad de inhibir la bioactividad de enzimas en el aparato gastrointestinal GI) pista⁽¹⁰⁾. Teniendo en cuenta el marcado cambio de pH en la pista GI, sensibles al pH PAA y sus derivados han atraído mucho interés por sus posibles aplicaciones en los sistemas de administración oral de drogas⁽¹⁰⁾. Sin embargo, la no biodegradabilidad de los derivados de PAA puede limitar a veces sus aplicaciones in vivo.

En la actualidad los sistemas de hidrogeles con nanopartículas son los más populares, ya que presentan características combinadas como son alta polaridad por parte del hidrogel y las ventajas de tener un tamaño pequeño llamándose nanopartícula. Entre estos sistemas, los más estudiados son los de polímeros naturales como el quitosano y el alginato y los sintéticos a base de poli (alcohol vinílico), poli (etilenimina), entre otros, cada uno presentando diferencias marcadas en la administración de fármacos.

Al realizar estos estudios se encontraron tres elementos determinantes para una mejora en la administración de fármacos, los cuales son: la difusión del fármaco, la capacidad de expansión estructural de la matriz en el hidrogel y la facilidad de interacción entre el complejo matriz/fármaco⁽¹²⁾.

Los sistemas de administración de fármacos bien diseñados deben controlar la liberación del principio activo a través del tiempo, para ello los hidrogeles muestran dos principales ventajas. La primera, los medicamentos se difunden fácilmente a través de los hidrogeles, lo cual se logra cambiando el grado de entrecruzamiento, polimerizando con monómeros hidrofílicos y controlando el rango de hidrofobicidad e hidrofiliidad de los monómeros⁽¹³⁾.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Los monómeros de acrilato de butilo (BuA), metacrilato de metilo (MMA) y ácido acrílico (AA) (National Starch & Chemical) fueron de calidad comercial y se usaron tal como se recibieron. El dodecilsulfonato sódico (SDBS), el persulfato potásico (de Aldrich), el dimetacrilato de etilenglicol (EDGM) eran de grado reactivo y se emplearon como tensioactivo, iniciador y agente de entrecruzamiento, respectivamente; se usaron sin purificación. El medio de dispersión fue agua desionizada.

Preparación del latex

Las muestras de poli (PAA-PMA-EDGM) carboxiladas se prepararon mediante polimerización en emulsión se polimerizaron en presencia de partículas de látex semilla de poli (BuA). Todas las reacciones se llevaron a cabo en un reactor semicontinuo constituido por un reactor encaquetado y dos tanques de alimentación conectados en serie. Un flujo continuo de material de pre-emulsión fue asegurado por una bomba dosificadora. El reactor consistió en un reactor de vidrio agitado de 500 mL bajo un flujo dinámico de N² ya una temperatura de 75°C, controlada por un baño térmico. La velocidad de agitación se ajustó a 250 rpm. El látex se sintetizó en tres capas. El contenido total de AA en el látex se varió de 20% y 25% en peso. En las dos series se varió, el contenido de dimetacrilato de etilenglicol de 0, 0.1, 0.3, 0.5% en peso. El contenido final de sólidos se determinó mediante técnicas gravimétricas.

Mediciones de diámetro de partícula y potencial z

El diámetro hidrodinámico de poli (BuA-MMA) carboxilado se determinó por dispersión dinámica de la luz (QELS). Todas las muestras se diluyeron y se midieron a temperatura ambiente a diferentes pH, utilizando un instrumento Malvern Autosizer 4800. Las distribuciones de tamaño de partícula se calcularon utilizando el programa CONTIN proporcionado por Malvern en el software del equipo.

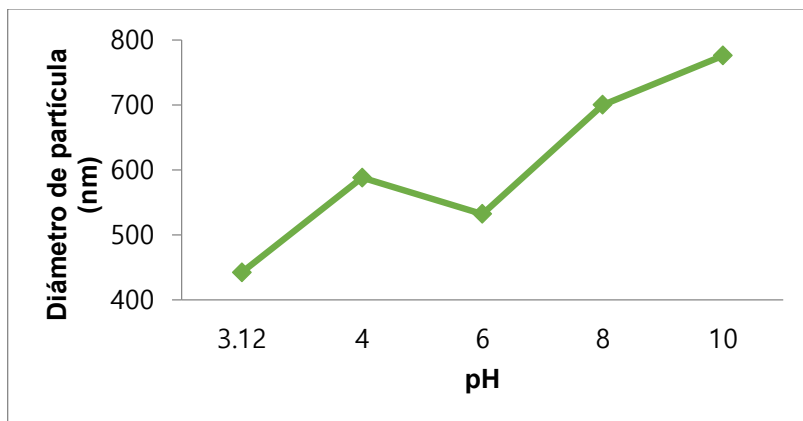
Área superficial y porosidad

El área superficial y el diámetro promedio de los poros fueron determinados por isothermas de adsorción de N² gas utilizando un ASAP 2000, de Micromeritics. Esta técnica considera el modelo BET (Brunauer, Emmettand Teller) para la evaluación.

RESULTADOS

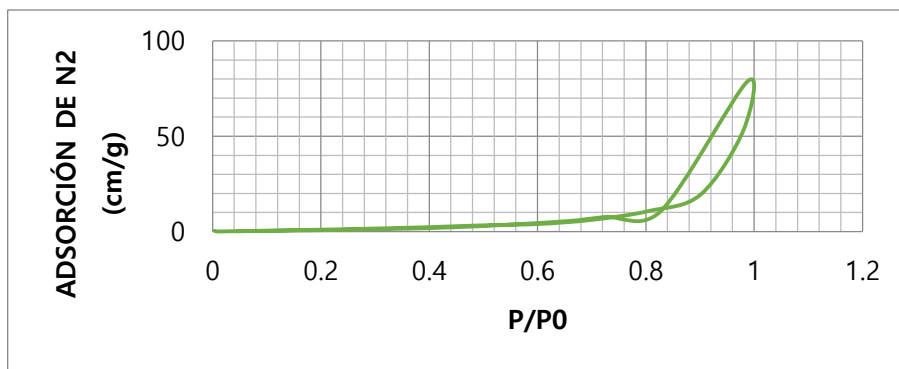
Se obtuvieron un total de 8 emulsiones poliméricas (látex) con un diámetro promedio de partícula de 300 a 400 nm y un pH aproximado de 3.0, y un potencial z de -40mv.

En los látex se realizaron mediciones de diámetro de partícula a diferentes pH para demostrar la actividad pH sensible de estas micropartículas, como podemos observar en la gráfica 1 como a medida que se aumenta el pH, las partículas se van hinchando. Este procedimiento se realizó con todos los látex a pH de 3, 4, 6, 8, y 10 siguiendo el mismo comportamiento que en el caso mostrado.



Gráfica 1. Diámetro de partícula vs pH 20%F 0.1% EDGM

Para obtención de las isotermas de absorción con N², se determinaron que las micropartículas se comportan como materiales mesoporosos, como se observa en la gráfica 2 la histéresis característica, éste estudio se le hicieron a todos los látex obteniéndose el mismo comportamiento. Las áreas superficiales reportadas son de entre 10-12 cm/g y el tamaño de poro 6.5 nm.



Gráfica 2. Adsorción-Desorción del látex 25%Func 0.5% EDGM

CONCLUSIONES

Se lograron sintetizar dos series de látex con dos diferentes grados de funcionalización y diferentes grados de entrecruzamiento. La micropartículas fueron liofilizadas, para obtener sus áreas superficiales de entre 10-12 cm/g y el tamaño de poro 6.5 nm. Los látex presentan un comportamiento pH sensible e hinchazón a pH cercanos a 6, el potencial z se ve afectado por el pH, a mayor pH mayor hinchazón hasta llegar al rompimiento de la partícula.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al CONACYT por beca de doctorado a SCC. A la secretaria de Investigación y Posgrado del Instituto Politécnico Nacional por el apoyo económico al proyecto 20170504.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gao, X.; He, C.; Xiao, C.; Zhuang, X.; Chen, X., "Synthesis and characterization of biodegradable pH-sensitive poly(acrylic acid) hydrogels crosslinked by 2-hydroxyethyl methacrylate modified poly(L-glutamic acid)", Materials Letters , Vol. 77, 2012, pp. 74–77.
2. Lowman, A.M.; Peppas, N.A. "Hydrogels" in: Encyclopedia of Controlled Drug Delivery, Vol. 1, Mathiowitz,

- E., Ed., John Wiley & Sons, New York, pp. 397-418.
3. Escobar, J.L.; García, D.M.; Zaldivar, D.; Katime, I. *Rev. Iber. Polim.*, Vol. 3, 2002, pp. 1-15.
 4. Yong Qiu, K.P. *Advanced Drug Delivery Reviews*, Vol. 53, 2001, pp. 321-339.
 5. Siegel, R. A.; Falamarzian, M.; Firestone, B.A.; Moxley, B. J. *Control. Rel.* Vol 8, 1988, pp. 179-182.
 6. García, D.M.; Escobar, J.L.; Bada, N.; Casquero, J.; Hernández, E.; Katime, I. *Eur. Polym. J*, Vol 40, 2004, pp. 1637-1643.
 7. García, D.M.; Escobar, J.L.; Noa, Y.; Bada, N.; Hernández, E.; Katime, I. *Eur. Polym. J*, Vol 40, 2004, pp. 1683-1690.
 8. Peppas, N.A.; Bures, P.; Leobandung, W.; Ichikawa, H. *Eur. J. Pharm. Biopharm*, Vol 50, 2000, pp. 27-46.
 9. Sáez, V.; Hernández, E.; Sanz, L. *Rev. Iber. Polim*, Vol 4, 2003, pp. 21-91.
 10. Dinh, S.M.; DeNuzzio, J.D.; Comfort, A.R. *Intelligent Materials for Controlled Release*. ACS., New York, 1999
 11. Hamidi M., Azadi A., Rafiei P. "Hydrogel nanoparticles in drug delivery". *Adv Drug Delivery Rev*, Vol 60, 2008, pp. 1638-49.
 12. Repetto J. M., Repetto K. G., "Toxicología fundamental", Ed. Díaz de Santos, 4ta edición, 2009, pág 163-65.

CAPACIDAD DE INTERCAMBIO CATIONICO Y MATERIA ORGÁNICA EN EL SUELO

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 capacidad de intercambio catiónico del suelo es la cantidad total de cargas negativas que están disponibles en la superficie de las partículas del suelo, principalmente en las arcillas y en la materia orgánica. Estos parámetros son indicadores de fertilidad en los suelos, razón por la que es relevante determinar si se encuentran en cantidades y a la profundidad idónea para las plantas. Valores altos a muy altos de capacidad de intercambio catiónico y de materia orgánica, indican que las condiciones del suelo van encaminados a una buena fertilidad. El objetivo fue hacer un diagnóstico de la capacidad de intercambio catiónico y la materia orgánica en cuanto a la fertilidad de suelos en el municipio de Álvaro Obregón, Mich. Se hizo un corte de suelo a 60 cm de profundidad por ser ésta a la que se establecen la mayoría de los cultivos. Se tomaron muestras de suelo entre los 0 y 30 cm de espesor. Se determinó la capacidad de intercambio catiónico saturando los sitios de intercambio con NaCl y la materia orgánica por combustión húmeda (Walkley-Black). Ambas, la capacidad de intercambio catiónico ($48.1 \text{ cmol}_{(+) } \text{ kg}^{-1}$) y la materia orgánica (6.2%) fueron de clase muy alta que indican condiciones adecuadas para que el suelo tenga buena fertilidad, productividad y favorezca la conservación del mismo.

INTRODUCCIÓN

El suelo es una capa viviente resultado de la transformación de la corteza sólida terrestre (Jordán, 2006). Está conformado de minerales, materia orgánica, aire, agua, organismos vegetales y animales. La fertilidad y productividad del suelo tiene una estrecha relación con la capacidad de intercambio catiónico y con la materia orgánica; si estas propiedades son favorables en el suelo, son buenas las condiciones de fertilidad, productividad y de conservación. Se han reportado valores de materia orgánica de 4.0 a 7.0% en suelos del campus Morelia de la UMSNH que indican condiciones favorables en cuestión de fertilidad, favorables para la plantación de vegetación así como de conservación de suelos (Alcalá *et al.*, 2015). Tapia (2005) indica que los suelos de cultivo de aguacate con capacidad de intercambio catiónico de $20 \text{ cmol}_{(+) } \text{ kg}^{-1}$ son de fertilidad media, la cual se puede mejorar con la adición de materia orgánica para aumentar la zonas de intercambio y de retención de nutrientes. En el municipio de Álvaro Obregón, Mich. no se tiene registro de trabajos de este tipo, por esta razón, se requiere contar con información por tratarse de una parcela de uso agrícola. Se determinaron la capacidad de intercambio catiónico y la materia orgánica de 0 a 60 cm de profundidad del suelo. La capacidad de intercambio ($48.1 \text{ cmol}_{(+) } \text{ kg}^{-1}$) y la materia orgánica (6.2%) en promedio, son de clase muy alta (NOM-023-RECNAT-2001), esto significa que el suelo es fértil, productivo y permite su conservación (Moreno y Dahme citados en Ibarra *et al.*, 2007).

DESCRIPCIÓN DEL SITIO DE ESTUDIO

El sitio de estudio se localiza en las coordenadas: $19^{\circ}50'59.64'' \text{ LN}$ y $101^{\circ}2'20.60'' \text{ LW}$ en el municipio de Álvaro Obregón, Mich. a 21.9 km al noreste de Morelia, Mich. a una altitud de 1855 m (Figura 1). El clima es templado con lluvias en verano con una precipitación pluvial anual de 918.8 mm. El suelo es Vertisol pélico (DETENAL, 1978) de uso agrícola, y la vegetación es de pastizal inducido, matorral y nopalera (INEGI, 1998).

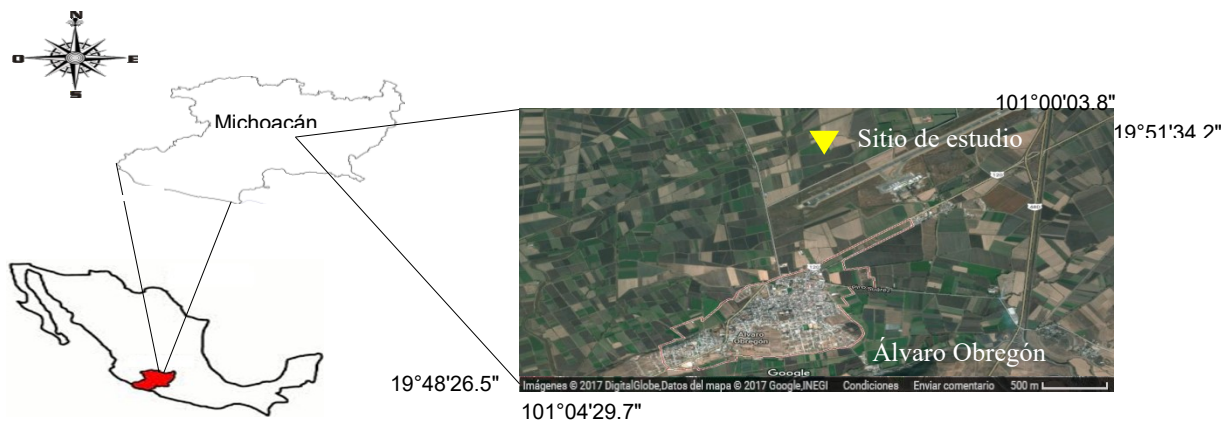


Figura 1. Localización del sitio de estudio

METODOLOGÍA

Se realizó un corte de suelo de 60 cm de profundidad y se tomaron muestras por horizonte cada 20 cm (Cuanalo, 1990). El suelo se secó a la sombra, se trituró y se tamizó en una malla de 2 mm de diámetro. En el laboratorio se realizaron los siguientes análisis químicos de acuerdo con la NOM-023-RECNAT-2001: materia orgánica por el método de combustión húmeda de Walkley y Black, y la capacidad de intercambio catiónico por centrifugado saturando los sitios de intercambio con NaCl.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la materia orgánica y la capacidad de intercambio catiónico se muestran en el Cuadro 1 y en las Figuras 2 y 3.

Tanto la Capacidad de intercambio catiónico como la materia orgánica fueron de clase muy alta, principalmente en los primeros 20 cm de espesor y conforme aumenta la profundidad del suelo, estos valores disminuyen. La clase de fertilidad de este suelo es alta con base en el contenido de materia orgánica de acuerdo con lo propuesto con Ibarra *et al.* (2007) y el suelo tiene altas posibilidades de conservarse.

Cuadro 1. Resultados CIC y MO del suelo

Profundidad	Materia orgánica	Clase	Capacidad de intercambio catiónico	Clase
cm	%		cmol ₍₊₎ kg ⁻¹	
0-20	6.65	Muy alta	48.98	Muy alta
20-40	6.30	Muy alta	47.75	Muy alta
40-60	5.75	Muy alta	47.81	Muy alta

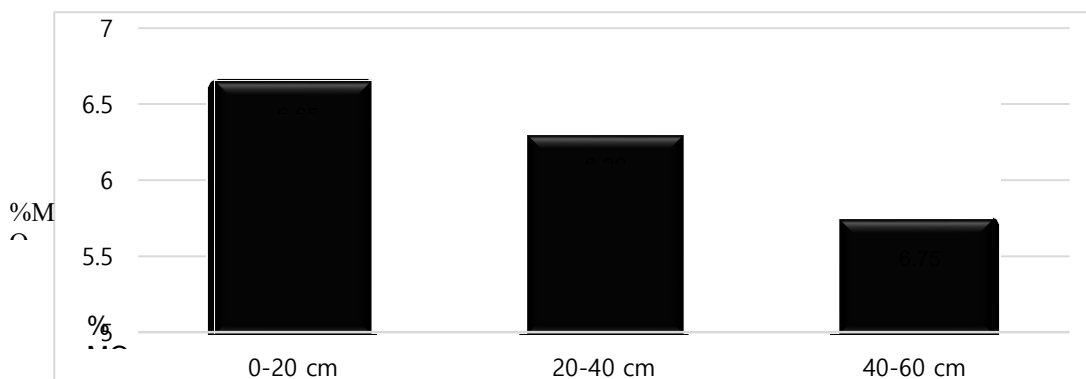


Figura 3. Contenido de MO del suelo

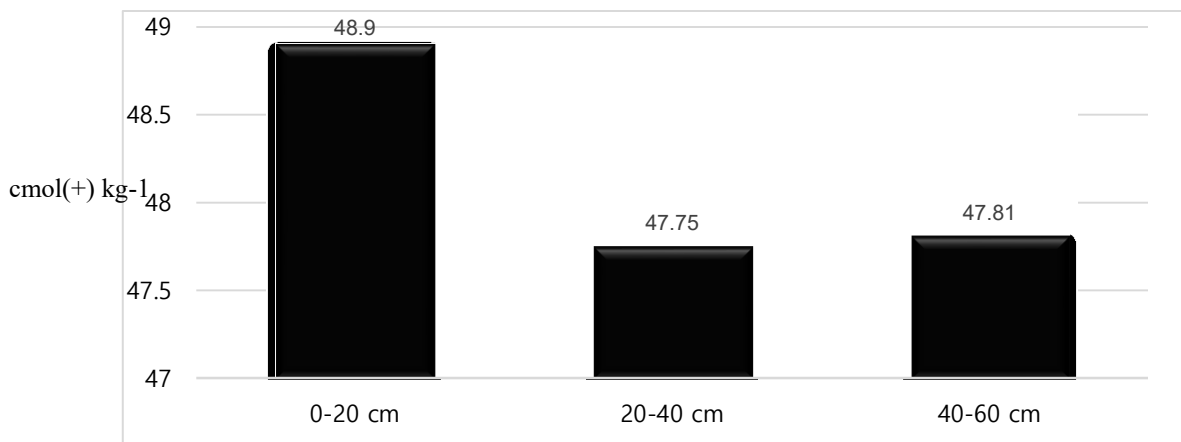


Figura 2. Contenido de CIC del suelo

CONCLUSIONES

Tanto la CIC y la MO fueron de clase muy alta, favorables para una alta fertilidad, productividad y conservación de los suelos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alcalá De J., M., M.O. Cortés V., J. C. González C. 2015. Materia orgánica y fertilidad de suelos. XL Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. San Luis Potosí, S. L. P. México.
2. Cabrera G.A., M.B. Zagal, M.S. Rosas M., M.M. Romero T., L. Díaz L. 1991. Manual para el curso de edafología. Laboratorio y campo. Facultad de Biología. UMSNH. Morelia, Mich. Actualizado en 2014 por M. Alcalá De J., M.S. Rosas M., J.C. González C. y J.M. Ayala G.
3. Cuanalo, C. H. 1990. Manual para la Descripción de Perfiles de Suelos en el Campo. 3ª Ed. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México, 40 p.
4. DETENAL. 1978. Carta edafológica. E14A13. Esc. 1:50 000. Secretaría de programación y Presupuesto. México.
5. DETENAL. 1979. Carta uso del suelo. E14A13. Esc. 1:50 000. Secretaría de programación y Presupuesto. México.
6. Ibarra C. D., J. A. Ruiz C., J. G. Flores G. y D. R. González E. 2007. Distribución espacial del contenido de materia orgánica de los suelos agrícolas de Zapopan, Jalisco. Terra Latinoamericana. 25:187-194.
7. Jordán L., A. 2006. Manual de Edafología. Universidad de Sevilla. Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola. 1ª Ed. España. 143 pp.
8. NOM (Norma Oficial Mexicana. Diario Oficial de la Federación). 2003 (23 de abril) NOM-023-SEMARNAT-2001. 73 p.
9. Tapia V., L. M., H. R. Rico P., I. Vidales F. 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 pp.

COMPARACIÓN DE CAPTURAS DE CARPA *Cyprinus carpio* ESPACIO-TEMPORAL EN LA PRESA ATLANGATEPEC, TLAXCALA

Rubén Romero Guerrero, Araceli Cortes García, Jesús Dámaso Bustamante González, Martha Rodríguez Gutiérrez y Mariela González Rentería.

Laboratorio de Reproducción Genética y Sanidad Acuícola. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. E mail: acortes@correo.xoc.uam.mx.

RESUMEN

Para los pobladores de la comunidad de San José Buenaventura en Tlaxcala, una de las actividades de mayor interés es la pesca y cuentan con la Presa de Atlangatepec ubicada a 37 km al norte de la ciudad, en las coordenadas 19°33'17.1" Latitud Norte y 98° 12'05.7" Longitud Oeste a una altitud de 2484 msnm (Santos, 1998). Para determinar las capturas de *C. carpio* en diferentes puntos y tiempo se monitoreo la pesca de las sociedades cooperativas de pescadores, con un GPS modelo Garmin GPS e Trex 10, aplicación de Google maps desde un teléfono marca Moto X Play Versión 5.0 y Google earth Versión 7.1.7.2 en CPU para la ubicación de los puntos de captura. Con las sociedades cooperativas de Santa Clara (SC) y San José (SJ) la captura de organismos fue en junio y octubre donde se revisaron 140 redes agalleras de 50 metros de largo por 1.5 metros de cortina y 4.5 pulgadas en luz de maya. De acuerdo a los resultados se colectaron un total de 138 organismos capturados durante el muestreo, 62 en junio y 76 en octubre la mayor abundancia se tuvo en santa clara en el mes de junio ajustando la captura por unidad de esfuerzo.

INTRODUCCIÓN

La pesca es producir el máximo de peces comercializables a partir de un ecosistema acuático dado, teniendo en cuenta las técnicas sustentables para tener un recurso que se autoregule (Barnabé, 1996).

La carpa es una de las especies con mayor distribución artificial, de acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2010) está entre las especies con mayor producción y en aumento en comparación con cualquier otro recurso pesquero de agua dulce, por lo que contribuye a la generación de alimentos, empleos y ganancias para las comunidades cercanas a estos ecosistemas (Rodríguez *et al.*, 2016). El cultivo de la carpa ha sido en general exitoso y se ha difundido notablemente como método de producción de proteína para consumo humano, una alternativa efectiva, ya que el crecimiento desmedido de la población a nivel mundial ha traído como consecuencia la necesidad de elevar los niveles de producción de alimentos y optimizar el aprovechamiento de los recursos existentes.

La carpa es una fuente de alimento para la población, es una opción más para las familias, debido a su bajo costo. Por tal motivo, es necesario que la producción y mantenimiento de la carpa este en aumento y esto solo se lograra actualizándose en las técnicas. En México el cultivo de esta especie está bien desarrollado y se inicia con la incubación de los huevos hasta llegar a la cosecha de los peces que han alcanzado la talla comercial. Se encuentra en el país con varios centros productores de crías distribuidos en diferentes estados, destacando el centro Acuícola de Atlangatepec ubicado en el estado de Tlaxcala.

Alguno de los beneficios derivados de la presa Atlangatepec, el almacenaje, reciclaje, procesamiento y adquisición de nutrientes, retención de sedimentos y acumulación de materia orgánica. Lo que representa hábitats para especies de importancia comercial como es *Cyprinus carpio*. Por lo cual el objetivo de la presente investigación fue evaluar la abundancia de *C. carpio* en dos unidades económicas de la presa de Atlangatepec mediante geoposición y su relación longitud-peso.

METODOLOGÍA

El presente estudio se realizó en la presa de Atlangatepec ubicada en el municipio de Atlangatepec, en el estado de Tlaxcala (Figura 1).

Se llevaron a cabo dos muestreos dirigidos, uno a finales de junio y otro en octubre del 2016 en dos Unidades Económicas (UE): Santa Clara (SC) y San José (SJ) con el apoyo de pescadores. Para lo cual, se utilizaron redes agalleras de 50 metros, 1.5 metros de cortina con luz de malla de 4.5 pulgadas colocadas en puntos estratégicos, las cuales permanecieron en promedio 12 h. Posterior a su captura, los organismos fueron

trasladados vivos a la estación para el registro de la longitud patrón (cm) haciendo uso de un ictiómetro modificado de 60 ± 0.01 de precisión y el peso (g) con una balanza digital marca Scout Pro de 4000 ± 0.1 g. La ubicación de los sitios de muestreo se llevó a cabo con la aplicación de Google maps con una celular marca: Moto X Play Versión 5.0 y Google Earth versión: 7.1.7.2606 en CPU y con GPS modelo: **Garmin GPS e Trex 10.**

Los resultados fueron analizados mediante regresión lineal con el paquete estadístico sigma Plot versión: 11.0.

RESULTADOS

Relación Longitud-Peso de *Cyprinus carpio*

La relación longitud-peso se determinó por sitio y mes de muestreo los valores indican una asociación alta superior al 80% (tabla 1)

Tabla 1. Coeficiente de correlación de cada zona en los diferentes muestreos

UE	Coeficiente de correlación
Junio SC	r= 0.889
Octubre SC	r= 0.856
Junio SJ	r= 0.879
Octubre SJ	r= 0.847

La longitud y el peso de los organismos capturados fue heterogénea la cual fluctuó de 20 a 45 cm y de 376 a 714 g en las dos unidades económicas a pesar de haber utilizado la misma luz de maya para la captura (tabla 2). Siendo en el mes de octubre las capturas con mayor longitud y peso.

Tabla 2. Promedios de la longitud - peso en los diferentes muestreos en las dos unidades económicas

UE	LP (cm)	Peso (g)
Junio SC	21.4±2.6	376.6±121.4
Octubre SC	26.2±4.2	676.3±383.0
Junio SJ	22.7±3.4	469.1±210.5
Octubre SJ	27.4±3.41	714.8±206.4

Geoposición:

En la figura 1, 2, 3 y 4 se muestran los puntos estratégicos donde se realizaron las capturas de *C. carpio* siendo la Unidad Económica Santa Clara quien presentó el mayor número de colectas.

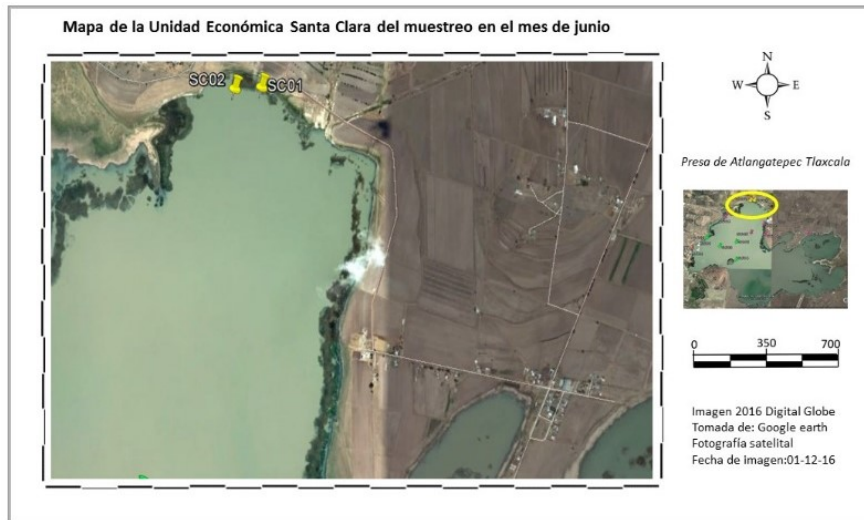


Figura 1 Mapeo para la Unidad Económica Santa Clara durante la captura de la temporada alta en el mes de junio

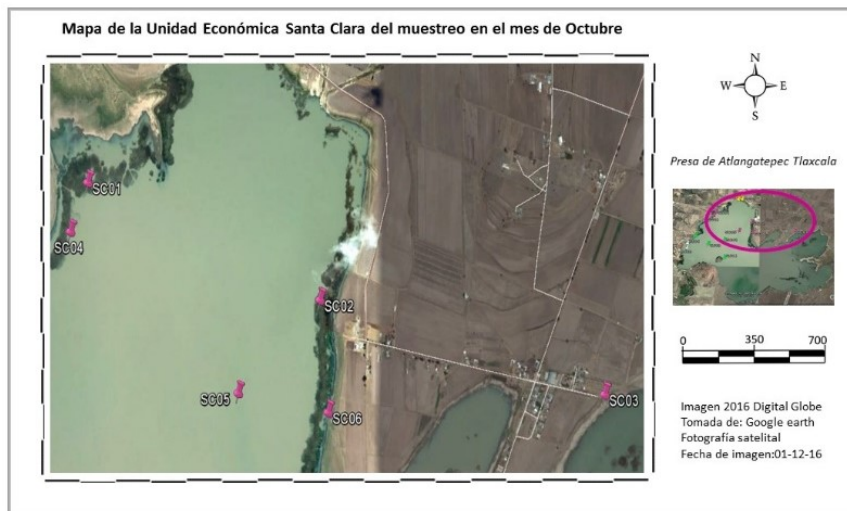


Figura 2 Mapeo para la Unidad Económica Santa Clara durante la captura de la temporada baja en el mes de octubre

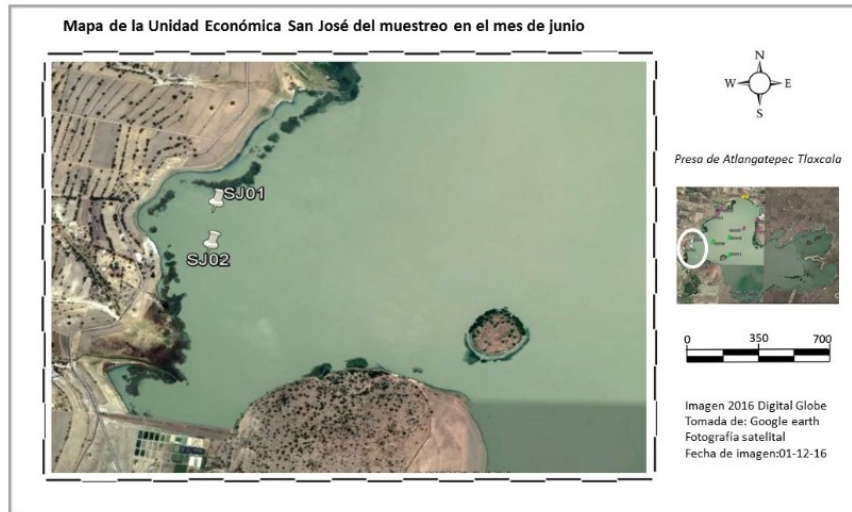


Figura 3 Mapeo para la Unidad Económica San José durante la captura de la temporada alta en el mes de junio

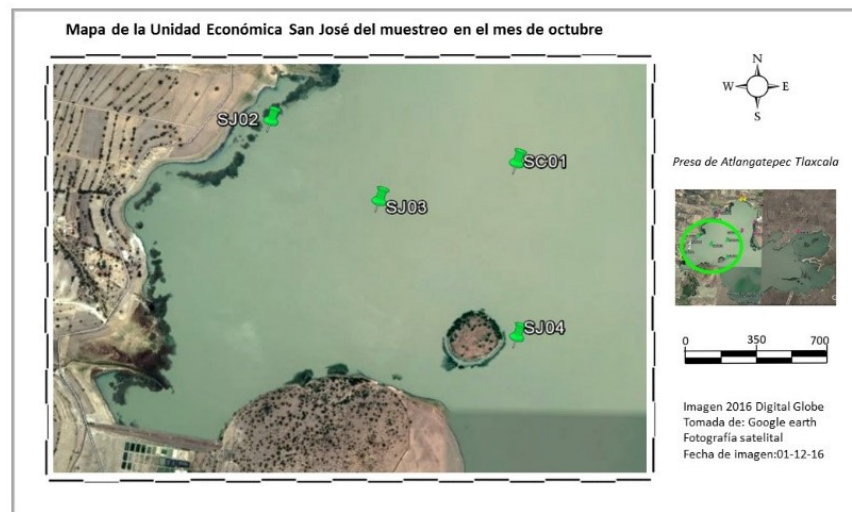


Figura 4 Mapeo para la Unidad Económica San José durante la captura de la temporada alta en el mes de octubre

Abundancia

La mayor abundancia se detectó en la Unidad Económica de Santa Clara con un total de 43 organismos en octubre la cual se atribuye a un mayor número de pescadores entendido como unidad de esfuerzo de captura.

Por otra parte, la menor abundancia fue en San José 33 organismos en el mes de junio la cual, es atribuida a un menor esfuerzo de captura siendo en total dos pescadores. La unidad económica de Santa clara presento la mayor biomasa 41.3 kg para los meses de junio y octubre versus san José 37.66 kg para los mismos meses con un valor promedio total de 78.79 kg en ambas unidades

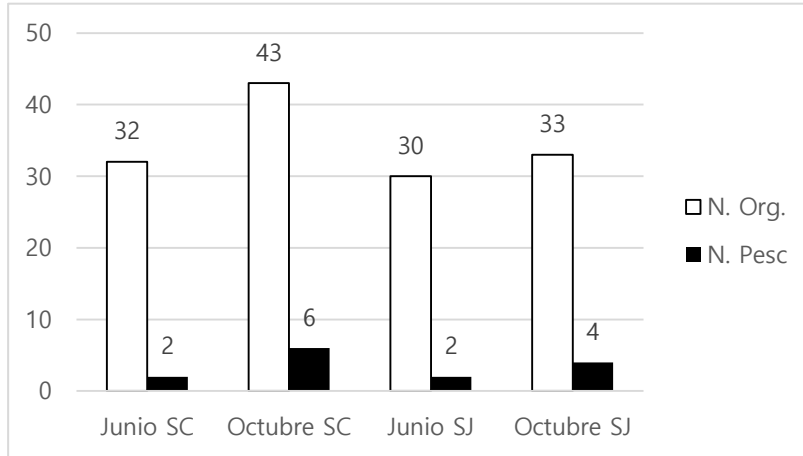


Figura 5. Relación de captura y número de pescadores entendida como la unidad de esfuerzo de captura (UEC)

DISCUSIÓN

Ritter *et al.* (1995) determinaron las características poblacionales e individuales de *C. carpio* en la presa San José Atlangatepec Tlaxcala. Para lo cual, realizaron muestreos durante dos semanas en el mes de noviembre utilizando redes de arrastre de 100 m con luz de maya de 2 a 5 cm. Posteriormente los organismos fueron categorizados de acuerdo a la edad, talla y peso la cual oscilo de uno a seis años, de 12 a 45 cm y de 100 g a 2700 g. contrastando con los resultados en la presente investigación el rango de tallas y pesos esta dentro de lo reportado. Aunado a lo anterior las máximas capturas de *C. carpio* en la presa se han registrado en los meses de agosto-septiembre, donde se presenta la mayor circulación del agua y la acción de los vientos dominantes y por los aportes del agua de los afluentes variables que favorecen la distribución de los organismos en la presa (Bermúdez *et al.*, 2002) .

Los valores referentes a la talla peso reportadas en la presente investigación se encuentran dentro de lo reportado por Ritter *et al.* (1995) la cual oscilo entre 20 a 45 cm 200 g a 2700 g.

Sin embargo al realizar el análisis de regresión se observó una asociación alta (>80%) que de acuerdo con Cifuentes *et al* (2012) es un buen indicador del crecimiento, estado nutricional y reproductivo de los peces; lo cual indica que la presa posee alimento suficiente y de calidad para el desarrollo de *C. carpio*. Teniendo en cuenta los componentes de su dieta y ubicación en el ambiente, puede afirmarse que la carpa se alimenta básicamente del bentos.

CONCLUSIÓN

Al geoposicionar los puntos de muestreo las capturas se ubican hacia el centro de la presa en la temporada invernal debido a que el organismo busca tener temperatura favorable y demanda alimenticia.

La abundancia en las dos unidades económicas está directamente relacionada con el número de pescadores teniendo mayor impacto en la unidad económica Santa Clara.

BIBLIOGRAFÍA

1. Barnabé, G. 1996. Bases biológicas de la acuicultura de los peses. Acribia. Zaragoza. P. 519.
2. Bermúdez, R. E. A., Cabrera, M.E., Pérez, V.P.A y Gutiérrez Z. R.M. 2002. Pesquerías en tres cuerpos de aguas continentales de México. Instituto Nacional de la Pesca. SAGARPA. México 94-129 pp.

3. Cifuentes, J. L., P. Torres- Gercía, M. Frias. 1999. El océano y sus recursos. IX. Acuicultura. La ciencia para todos. Fondo de cultura económica. 3° ed. México. p.163
4. Howes, G. 1991. Systematics and biogeography: an overview. In Ciprinid Fishes. Systematics, Biology and exploitation. Winfield, I and J , Nelson (Edits). Chapman and Hall. Great Britain. p.240-262
5. Kaushik, S. J. 1993. Recent trends in the development of high- energy diets for salmonids. In: G. Piva (Editor), proceedings, second International Feed Production Conference. Mattioli, Fidenza. Italy. p. 361-372
6. Ritter O. Suárez S. y Rodríguez M. 1995. Crecimiento, sobrevivencia y optimización de la carpa (*Cyprinus carpio*) en la presa de Atlangatepec, Tlaxcala. Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. UNAM
7. Rodríguez G. M., Cortés García A. Contreras García D y García Ramírez J. E. 2012. Implementación de acciones de ordenamiento pesquero en el estado de Tlaxcala. SAGARPA, CONAPESCA, DGOPA, SAGARPA-CONAPESCA. PP 57

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE AGUA DE UN EFLUENTE ACUÍCOLA CON UN BRM, PARA EL MANTENIMIENTO EN CAUTIVERIO DE *Skiffia multipunctata*

Renné Ibeth López Chacón, Isaías Negra Jiménez y Julio César Orantes Ávalos

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo,
Universidad Tecnológica de Morelia,
Facultad De Biología, UMSNH.
(biol.renne.lopez27@outlook.com)

RESUMEN

Los Sistemas Acuícolas con Recirculación (RAS) funcionan como sistemas al aire libre o bajo techo. Debido al modo intensivo de la producción de peces, en muchos de estos sistemas, el tratamiento de residuos dentro del cultivo de recirculación y los efluentes de estos sistemas, es la preocupación principal. Desde el enfoque biológico, se puede aplicar de manera efectiva el tratamiento de efluentes de la acuicultura, para evitar constante recambio de agua en los tanques, evitando así el desperdicio de este recurso. Esto puede ser posible, gracias a la acción de bacterias degradantes en los Biorreactores de membranas sumergidas (BRM); los cuales son una combinación de procesos de tratamiento biológico y de microfiltración por membranas para la retención de biomasa. Su uso en la acuicultura es un sistema de tratamiento innovador, mediante el cual es posible eliminar el amonio (NH_4), que resulta tóxico para los peces.

En el presente trabajo se utilizó como sustrato el efluente de tanques de *Skiffia multipunctata*, pez susceptible a efectos del amonio y otros compuestos tóxicos, por lo que resulta importante tener un buen sistema de tratamiento. Este requerimiento primordial de la especie en cuestión, convierte el presente estudio en un reto interesante para tratar los desechos del propio metabolismo de los peces y restos de alimentos, entre otros componentes disueltos en el agua.

Se obtuvieron excelentes resultados: se logró reducir en un 99 % tanto el amonio como la DQO en el efluente tratado al término de la experimentación, cumpliendo así los objetivos principales de este trabajo.

Palabras clave: Tratamiento especializado de aguas residuales, Cultivo de peces, Biorreactor de membranas sumergidas, Sistema de Recirculación Acuícola.

INTRODUCCIÓN

Muchas de las actividades antropogénicas han generado un impacto fuerte y negativo en el medio ambiente, teniendo como consecuencia altos índices de contaminación y pérdida de biodiversidad. En México esto ha sido un problema que requiere de urgente atención, debido a que se encuentra dentro de los primeros tres países con mayor biodiversidad del planeta (CONABIO, 2014). Esta variedad de especies, así como las condiciones geográficas y biogeoquímicas, dan lugar a un gran número de especies endémicas cuya importancia para la vida es invaluable. Tal es el caso de la especie *Skiffia multipunctata*, pez de gran importancia biológica perteneciente a la familia Goodeidae, que se distribuye a lo largo de la cuenca del río Lerma-Chapala y con la cual se ha trabajado activamente para su conservación, dada su importancia biológica, ya que poseen fertilización interna, dan a luz crías vivas y cuentan con un sistema especializado de nutrición embrionaria (Domínguez, 2007); sin embargo, al igual que otras especies endémicas de peces, son extremadamente sensibles a diversas sustancias tóxicas.

La acuicultura, como parte de la solución, ha integrado el tratamiento de aguas residuales dentro del sistema de cultivo, ayudándose de diversos reactores, con la finalidad de remover del agua la materia orgánica y las sustancias tóxicas para los peces y poder recircular el agua dentro del cultivo de peces sin desperdiciar este recurso. El cultivo intensivo de peces comerciales para generar fuente de proteína para el hombre, asimismo puede ser usado con fines de conservación y mantenimiento de especies en cautiverio. En el Laboratorio de Biología Acuática de la Facultad de Biología de la UMSNH se ha trabajado en la conservación ex situ de *Skiffia multipunctata*, con la finalidad, a posteriori, de ser reintroducidos su ambiente original (Maxted, 2013).

Los MBR son reactores biológicos, en los que una comunidad bacteriana, en suspensión, degrada los contaminantes presentes en el agua y se acopla a un proceso de microfiltración, el cual permite degradar los

contaminantes y retener la biomasa en el reactor, alcanzando altos estándares de tratamiento de agua. Este biorreactor puede adaptarse a un RAS, con la finalidad de obtener una calidad de agua óptima en el cultivo de peces, sin impactar de manera negativa los cuerpos de agua por las descargas, garantizando recirculación del 90-95% del volumen total en el sistema (Wik et al., 2009; Cárdenas, 2008). El principal objetivo de este trabajo fue determinar la eficiencia de remoción de materia orgánica y nitrógeno amoniacal, del efluente de un cultivo de *Skiffia multipunctata* en un biorreactor de membranas sumergidas a escala laboratorio. De esta manera se lograría tener un sistema completamente recirculado al llevar el agua posteriormente a las peceras, además de que la biomasa generada en el MBR podría ser reciclada como alimento complementario para algunos peces cultivados, de esta manera podrán extrapolarse los resultados a cultivos no sólo con fines de mantenimiento de especies en cautiverio, sino en cultivos comerciales y así aumentar la productividad de los sistemas acuícolas en la entidad, evitando daños ambientales generados por la contaminación del agua.

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactor experimental.- Se utilizó un reactor de acrílico a escala de laboratorio, con un volumen de 70L. El módulo de membranas planas de PVDF (Poli-Fluoruro de Vinilideno) se encuentra sumergido al centro del reactor. La membrana tiene un tamaño de poro de 0.14 µm. En la parte inferior se colocó un difusor circular de burbuja fina (<2mm de diámetro), utilizado para la aeración y agitación de la suspensión biológica del reactor. El aire fue suministrado por un soplador. La extracción del permeado del BRM (Fig. 1) se realizó por medio de una bomba peristáltica Watson Marlow® a una tasa $J=7 \text{ L/m}^2 \cdot \text{h}$ ($Q=30 \text{ L/d}$). En la línea de succión de la bomba se encuentra un transductor de presión, conectado a una caja de adquisición de datos, para el registro de los mismos con el software LabView®, y con esto poder llevar el monitoreo de la presión transmembranal y la temperatura de la suspensión biológica. Se instaló en el Laboratorio de Biología Acuática en la UMSNH.

Fig. 1. Reactor experimental montado en el laboratorio.

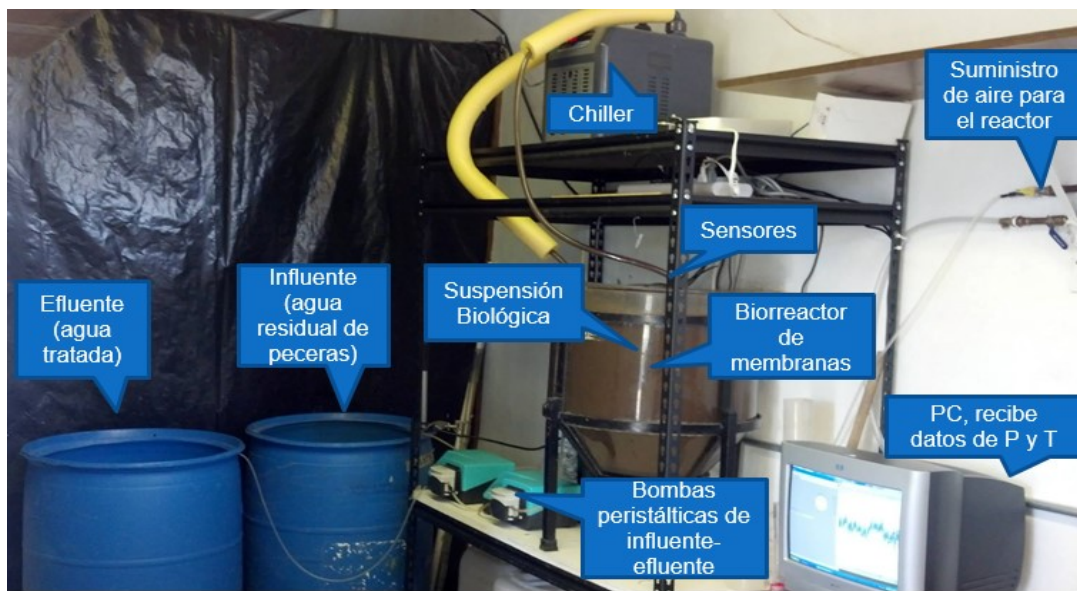


Tabla 1. Características del lodo del inóculo

SSV	SST	DQO _{sol}	DQO _{total}
(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)
720	1020	11	1210

Inóculo del biorreactor.- Se inoculó con mezcla de lodos activados de la planta de tratamiento de aguas residuales “Las Garzas”, de Pátzcuaro, Michoacán. Las características del lodo de inóculo se presentan en la Tabla 1.

Sustrato del biorreactor.- Se utilizó el agua proveniente de un cultivo de peces *Skiffia multipunctata* (Fig. 2) del Laboratorio de Biología Acuática de la Facultad de Biología de la UMSNH, enriquecido con acetato de sodio (CH₃CO₂Na) como fuente de carbono, nitrato de amonio (NH₄NO₃) y fosfato de amonio (NH₄H₂PO₄), para mantener una relación de nutrientes C:N:P de 150:10:1. Como micronutrientes se utilizaron NaCl, MgSO₄ y CaCl₂. El sustrato fue neutralizado con hidróxido de sodio 1N (NaOH) (Rueda, 2014).



Fig. 2. *Skiffia multipunctata*.

Condiciones de operación.- Este trabajo se basa en el seguimiento del reactor experimental durante un periodo de 115 días, en los que se trabajó bajo una condición de retención total de sólidos en el biorreactor, debido a que se buscaba incrementar la concentración de biomasa degradante, la cual aumentó durante la experimentación desde 720 mg/L hasta llegar a 6,900 mg/L y en condiciones fisicoquímicas controladas (Tabla 2). Los MBR pueden alcanzar un largo tiempo de retención celular (TRC), que permite que el sistema pueda mantener una cantidad suficiente de bacterias de crecimiento lento, como las bacterias oxidantes de amonio (Sun et al., 2015) y estos pueden ser potencialmente reutilizados como alimento de algunos peces de cultivo.

Tabla 2 Condiciones de operación del reactor experimental

Temperatura	Oxígeno disuelto	pH	Carga orgánica	
			inicial	final
(°C)	(mg/L)		(kgDQO/kgSSV·d)	(kgDQO/kgSSV·d)
20±1	> 2	7.5 ±1	0.8	0.13

Análisis de las muestras.- En cada muestreo se determinaron: nitrógeno amoniacal (N-NH₃; Test'n Tube Vials-Método del salicilato, Hach®), nitrógeno de nitritos (N-NO₂⁻; Método de diazotación, Hach®), nitrógeno de nitratos (N-NO₃⁻; Método de reducción del Cadmio, Hach®), demanda química de oxígeno (DQO; método de digestión con reflujo cerrado, Hach®), así como sólidos suspendidos totales y sólidos suspendidos volátiles (SST y SSV respectivamente; por métodos normalizados gravimétricos), con una frecuencia de dos veces por semana.

RESULTADOS

Parámetros fisicoquímicos.- La temperatura se mantuvo en 20° C ± 1. El pH se mantuvo en 7.39 en promedio durante toda la corrida experimental, sin mayores variaciones y el OD siempre fue mayor a 2 mg/L, lo que garantizó las condiciones fisicoquímicas adecuadas, así como condiciones aerobias adecuadas para el desarrollo de la biomasa.

Presión y flujo transmembranal.- La presión transmembranal se mantuvo constante, siempre menor a un 1 Bar. Esta condición garantizó la estabilidad del flujo membranal y del gasto de agua tratada, sin necesidad de hacer un lavado químico de las membranas que generara alguna discontinuidad en el proceso biológico (Fig.3).

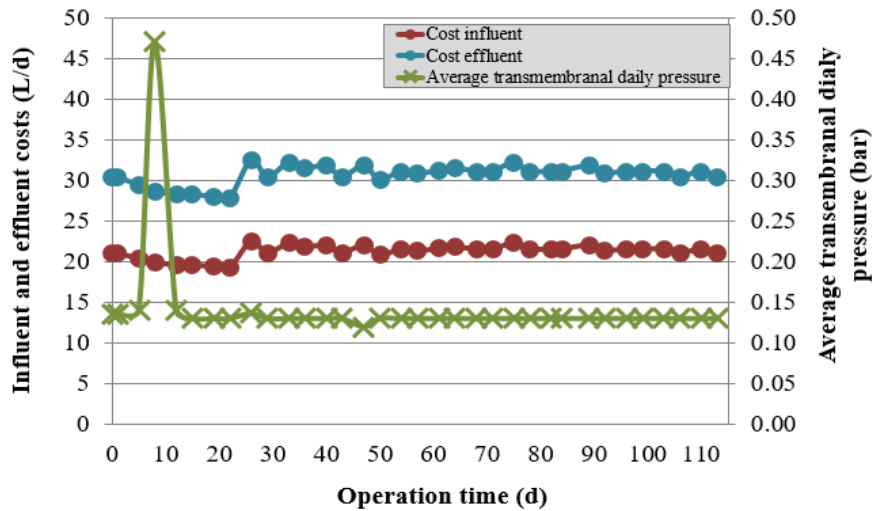


Fig. 3 Estabilización de la presión transmembranal a lo largo del periodo experimental

Remoción de materia orgánica.- La calidad del efluente, una vez estabilizado el reactor se mantuvo por debajo de los 30 mg/L (Fig. 4.A). El crecimiento de la biomasa se mantuvo prácticamente constante con una tasa promedio de aproximadamente 180 mgSSV/d, hasta alcanzar prácticamente los 7000 mg/L (Fig. 4A), con eficiencias de remoción de DQO que en promedio de se mantuvieron en 98.39% (Fig. 4B).

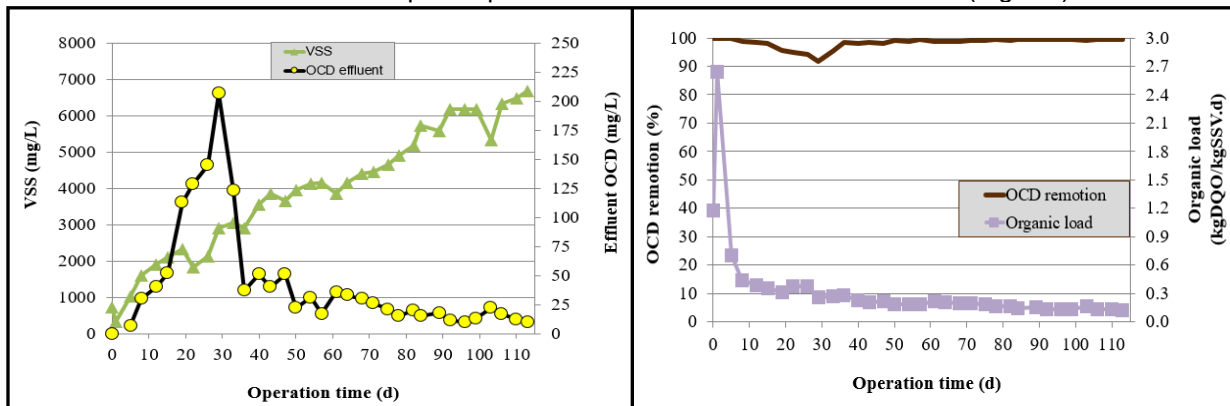


Fig. 4. Concentraciones de diversos parámetros a lo largo de la experimentación en el reactor4A.- SSV y DQO en el efluente; 4B.- CO y eficiencia de remoción de DQO.

Remoción de amonio.- El nivel de remoción se mantuvo en un promedio de 97.3% de efectividad de eliminación de amonio un vez estabilizado el reactor experimental (Fig. 5)

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados muestran que el sistema se mantuvo fisicoquímicamente estable y estas condiciones aunadas al buen desempeño de las membranas y a la estabilidad del flujo membranal garantizaron la eficiencia de degradación y el óptimo desarrollo del bioproceso (García-Ochoa y Gómez, 2010).

El incremento de la biomasa (SSV) permite incrementar la capacidad de degradación del biorreactor, cambiando de las concentraciones típicas de un reactor biológico de biomasa en suspensión a las concentraciones recomendadas para un BRM (García-Ochoa y Gómez, 2010), ya que su capacidad de degradación está basada fundamentalmente en su incremento de biomasa y es lo que permite alcanzar mucho mayores eficiencias de degradación. Se identificaron dos etapas: Una primera etapa de adaptación en la que se puede observar que la degradación de la materia orgánica tuvo todavía un pico de muy baja eficiencia alrededor del día 25 (Fig. 4.A) y la remoción de amonio no fue muy eficiente (i.e. hasta el día 30) (Fig.5); y una segunda etapa, donde la biomasa ya está estabilizada y las eficiencias de remoción tanto de materia orgánica como de nitrógeno amoniacal permiten lograr un efluente de muy buena calidad con concentraciones inferiores a los 30 mgDQO/L y concentraciones de nitrógeno amoniacal prácticamente despreciables.

Tabla 3.- Comparación entre requerimientos de la especie para su desarrollo y resultados en el efluente.

<i>Parámetro</i>	<i>N-NH₃</i>
<i>Desarrollo óptimo de la especie (mg/L)</i>	Entre 0.47 y 3.23
<i>Resultados obtenidos (mg/L)</i>	< 0.1

Estas concentraciones de nitrógeno amoniacal tienen particular importancia en virtud de que este residuo de los efluentes acuícolas es el compuesto es el más tóxico para los peces. La calidad del efluente alcanza satisfactoriamente los requerimientos para el cultivo de la especie en estudio *S. multipunctata* (De la Vega, 2005).

De esta forma se puede considerar que si el efluente tratado es apto para el cultivo de una especie endémica y sensible a sustancias tóxicas en bajas concentraciones, este sistema sería todavía con mayor facilidad adaptable a sistemas productivos de cultivo intensivo, con la garantía de que se va a reducir el impacto ambiental negativo por la reducción del consumo de agua y la reducción de emisión de contaminantes.

CONCLUSIONES DEL TRABAJO

Se identificaron dos fases principales en la experimentación: fase de arranque y de estabilización. En la etapa de arranque fundamentalmente se da el mayor crecimiento de la biomasa y la adaptación de la misma a las condiciones de operación del reactor. En la etapa de estabilización ya se mantuvo constante y elevada la calidad del efluente, alcanzando tasas de remoción superiores al 96%.

Se lograron altas eficiencias de remoción tanto de nitrógeno amoniacal, como de materia orgánica, por lo que, podemos concluir que el efluente obtenido del tratamiento por medio del BRM es una excelente opción para el reúso del mismo con fines de mantenimiento y/o producción intensiva de peces comerciales. Se esperaría que la especie en cuestión (*S. multipunctata*) se desarrolle adecuadamente, en un ambiente libre de toxicidad y reducir de manera importante el consumo de agua.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cárdenas, S. (2008). Sistemas de recirculación en acuicultura. Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera IFAPA. Master en acuicultura y pesca. Cádiz, España.
2. CONABIO. (2014). México, ¿Qué es un país megadiverso? <http://www.biodiversidad.gob.mx/pais/quees1.html>
3. De la Vega-Salazar, M. (2005). Estado de conservación de los peces de la familia Goodeidae (Cyprinodontiformes) en la mesa central de México. Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología UNAM. Jalisco, México.
4. Domínguez, O., Pérez Ponce de León, G. (2007). Los goodeidos, peces endémicos del centro de México. CONABIO. Biodiversitas 75 (2007). 12-15 pp.
5. García-Ochoa, F. y Gómez, E. (2010). Bioreactor scale-up and oxygen transfer rate in microbial processes: An overview. *Biotechnology Advances*, 27-2 (2009). 153-176 pp.

6. Maxted, Nigel. (2013). *In situ, Ex situ* Conservation. En: Maxted, Nigel (Ed.) Encyclopedia of Biodiversity. University of Birmingham, UK. 313-323 pp.
7. Sun, F., Sun, B., Hu, J., Él, Y. y Wu, W. (2015). Organics and nitrogen removal from textile auxiliaries wastewater with A2O-MBR in a pilot-scale. *Journal of hazardous materials* 286 (2015). 416-424 pp.
8. Wang, Z., Xu, X., Gong, Z. y Yang, F. (2012). Removal of COD, phenols and ammonium from Lurgi coal gasification wastewater using A2O-MBR system. *Journal of hazardous materials*, 235 y 236 (2012). 78-84 pp.
9. Wik, T. E. I., Lindén, B. T., y Wramner, P. I. (2009). Integrated dynamic aquaculture and wastewater treatment modelling for recirculating aquaculture systems. *Aquaculture*, 287(3-4), 361–370 pp.

IMPLEMENTACIÓN DE UN MÉTODO DE ELECTROSÍNTESIS ORGÁNICA POR MEDIO DE VOLTAMPEROMETRÍA PARA LA OBTENCIÓN DE VAINILLINA.

Moreno R, María Luisa, Mota D, Zyanya L., Pérez L, Carlos I., Abreu P, Alejandra A., Pedraza A. Gustavo, González L., Maricela.

Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro ¹ma.lu.ruiz@hotmail.com

RESUMEN

Se implementó un nuevo método para síntesis de vainillina con el fin de ofrecer una síntesis alternativa que es amigable con el ambiente y además implicó menor tiempo de reacción y gasto de reactivos. Se utilizó electrosíntesis orgánica por medio de voltamperometría lineal y se planteó un mecanismo de reacción en el cual, el ácido Vainillin Mandélico es oxidado en medio básico con Hidróxido de Sodio y posteriormente descarboxilado para dar lugar a la síntesis. Se realizó la curva de calibración por medio de voltamperometría lineal con concentraciones desde 50 hasta 350 mg/L y posteriormente la preparación de soluciones con 0.01 g de ácido vainillin mandélico a pH 7, 10 y 13.82 para llevar a cabo la electrosíntesis de vainillina. La curva de calibración realizada se hizo en un rango de potencial cercano a 0.96 V característico para la Vainillina. Los resultados obtenidos para la síntesis a pH 7 fueron intensidad media de 0.005049 mA en un rango de potencial de 0.9 a 1.1 V que corresponde a 76.2% de conversión promedio, para pH 10 una intensidad media de 0.0047503 mA en un rango de potencial de 0.9 a 1.1 V y un porcentaje de conversión promedio de 65.84% y a pH 13.82 pero no se pudo realizar el análisis estadístico pues solo se pudo realizar una síntesis de manera exitosa. Se puede concluir que es posible llevar a cabo la síntesis de vainillina por medio de voltamperometría lineal a partir de ácido vainillin mandélico a pH 7.

INTRODUCCIÓN

Se implementó un nuevo método para síntesis de vainillina con el fin de ofrecer una síntesis alternativa que es amigable con el ambiente pero además implica menor tiempo de reacción y gasto de reactivos, se obtuvieron resultados favorables en cuanto a la síntesis del compuesto de interés, logrando cumplir con las expectativas esperadas y resolver los problemas o adversidad que tiene la síntesis actual.

TEORÍA

La Vainillina es el compuesto primario de la vaina de vainilla, aproximadamente el 2%, es de gran interés por su amplia aplicación en la industria, por ejemplo, en la alimenticia como aditivo de sabor y color, en perfumería, industria farmacéutica y cosmética. La síntesis de la vainillina data de la década de 1930 donde tomó fuerza como saborizante obteniéndose a partir de lignina procedente de la celulosa en la industria papelera por el método de Kraft, sin embargo hoy en día este método ha presentado una disponibilidad reducida ya que hay un gran impacto ambiental debido a que es necesaria una elevada cantidad de árboles para que a través de la lignina se genere vainilla (Chavez y Domine, 2013). Otro método de síntesis para la vainillina comúnmente utilizado es a través del guayacol, este método presenta una desventaja en su impacto ambiental por el uso de solventes tales como el cloroformo y tolueno, los cuales también presentan un alto riesgo para la salud al ser la vainillina usada como aditivo en alimentos. Motivo por el cual se propone desarrollar un nuevo método por electrosíntesis orgánica, la cual se basa en el uso de una corriente eléctrica que funciona como catalizador de la reacción. Existen diversos métodos para llevar a cabo una electrosíntesis siendo uno de estos el de voltamperometría cíclica o lineal que se basa en el uso de tres electrodos: uno de referencia, otro de trabajo, y por último un contraelectrodo. Dichos electrodos se seleccionan en base al tipo de compuesto que se desee sintetizar y del rango de voltaje en el que se encuentra el pico de óxido-reducción del producto esperado. Al instrumento que se usa en dicha síntesis se le llama potenciostato, éste tiene como fundamento el mantener constante el potencial del electrodo de trabajo, y obtener como respuesta la intensidad de corriente, su función es la de observar el potencial del electrodo de referencia con respecto al de trabajo realizando un barrido obteniendo una gráfica en la cual se observa la relación V(voltaje) contra I(intensidad). (Bard A J, 2001 y Deng y col, 2015). El método presenta una elevada sensibilidad a los cambios de concentración del analito al tener bajos límites de detección y cuantificación que sólo dependen de la resistencia de la celda, la matriz y el pH usado en el ensayo, de igual manera la técnica presenta una herramienta con la cual podemos lograr la cuantificación del

compuesto de interés que posteriormente puede ser utilizado para el cálculo del porcentaje de rendimiento de la síntesis. La electrosíntesis orgánica es considerada una tecnología verde debido a que no genera residuos que pueden ser considerados como contaminantes, además de que requiere de menos etapas de purificación de sus productos. El uso de voltaje en este tipo de métodos como catalizador es considerado inerte para el medio ambiente. La principal ventaja de dicho método es la alta selectividad y control de la reacción en especial cuando se trabaja con sustratos polifuncionales (Deng y col, 2015). Además esta síntesis es de gran interés industrial debido a su gran eficiencia eléctrica global en comparación a los procesos térmicos, uso de reactivos menos costosos, condiciones de trabajo menos agresivas, una menor cantidad de etapas de proceso, mejor control de la reacción, debido al uso de los potenciales de los electrodos y una mayor pureza en los productos obtenidos. Recientemente esta síntesis es usada para la formación de enlaces N-N, aminación, óxido-reducción y producción de carbocationes en el medio por el método de “cati3n-pool”. Estos métodos se usan cuando la síntesis convencional no presenta las características deseadas, tales como rendimiento y tiempo de reacción. Este método presenta un particular interés en la síntesis de productos naturales, fármacos y saborizantes (Sequeira y Santos, 2009). En la Tabla 1 se muestra una comparación en cuanto a rendimiento entre tres métodos antes mencionados (Kraft, guayacol y Electrosíntesis).

Tabla 1. Comparación de % de rendimiento entre los diferentes métodos empleados para la síntesis de la vainillina (Beyer y Walter, 1987).

Método	De Kraft	Guayacol	Electrosíntesis
% de rendimiento	7 - 25 %	70%	70 - 95% *

*Rendimiento esperado de la electrosíntesis.

METODOLOGIA

La síntesis se llevó a cabo mediante una oxidación y descarboxilación del ácido vainillin mandélico (ácido 4-hidroxi-3-metoximandélico) mediante condiciones estándar a pH básico con una velocidad de barrido de 10 mV/s y finalmente se calculó el rendimiento obtenido por medio de voltamperometría lineal. La metodología se dividió en dos etapas, la primera siendo la curva de calibración en la cual se usó un estándar de vainillina para encontrar el pico esperado de óxido-reducción del cual se conoce que el valor teórico es de 0.964 V (Deng y col, 2015) usando la técnica de voltamperometría cíclica y se observaron los picos de las reacciones electroquímicas que se llevaron a cabo. Después se llevó a cabo la electrosíntesis de la vainillina a partir del ácido vainillin mandélico usando hidróxido de sodio como electrolito soporte, debido a que posee una ventana de potencial de trabajo de -0.35 V a -0.8 (Gomis, 1996) por lo que dichos valores no influyen en la identificación del pico característico. Para la preparación del estándar y curva de calibración para medición de concentración de vainillina, se comenzó con un estándar de vainillina con el cual se elaboró una solución de concentración estándar de 500 mg/L disuelto en etanol, en base a esta se realizaron diluciones a 350, 300, 250, 200, 150, 100 y 50 mg/L aforando con una solución de ácido fosfórico 0.1 M como electrolito soporte. Después se realizó un barrido con una velocidad de 10 mV/s y una ventana de trabajo de 0- 1.4 V, usando la técnica de voltamperometría lineal. El electrolito soporte se corrió usando las mismas condiciones, esto para eliminar la posible aparición de picos por el medio. Se obtuvieron los valores de intensidad y se calcularon los parámetros necesarios para la validación de la curva de calibración.

Posteriormente se realizaron las pruebas a los distintos pH's, usando las mismas condiciones: Temperatura ambiente, cantidad de precursor VMA de 0.01 g, electrodo de carbón vítreo como electrodo de trabajo, electrodo de calomel como electrodo de referencia y contraelectrodo de Platino todo a tres valores de pH (7, 10 y 13.82). Para la electrosíntesis se utilizó el método de voltamperometría lineal, con las condiciones antes descritas y añadiendo una velocidad de barrido de 10 mV/s, usando como ventana de trabajo el rango de 0 a 1.4 V. La concentración del ácido vainillin mandélico se mantuvo constante a 0.01 g. Con los resultados obtenidos se realizaron un análisis estadístico (ANOVA/ Tuckey) con los programas MiniTab y Prism.

RESULTADOS

Se llevó a cabo el barrido del electrolito soporte para la curva de calibración, siendo éste en una ventana de trabajo de 1 V a -1 V a una velocidad de barrido de 10 mV/s (Figura 1)

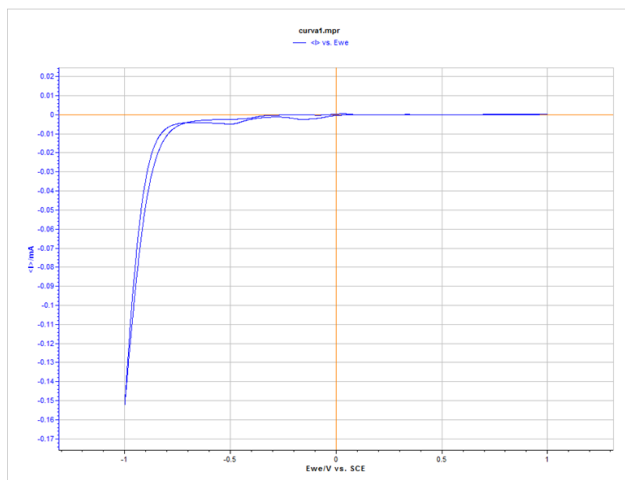


Figura 1. Barrido del electrolito

En la Figura 2 está la curva de calibración realizada, con valores de concentración de 50, 100, 150, 200, 250, 300 y 350 mg/L. Usando las condiciones de 10 mV/s con una ventana de trabajo de 1-1.4 V. Se observó un rango del pico de oxidación en la zona 0.9-1.1 V, en dicho rango se encuentra el valor encontrado de la vainillina siendo este de 0.964 V (Peihong Deng, 2015). Se obtuvieron los parámetros de calidad para la curva, siendo estos un coeficiente de correlación, R^2 , límite de cuantificación, límite lineal y límite de detección (Figura 3). En la curva de calibración se observa una $R^2 = 0.9595$ lo que da un valor de linealidad cercano a 1, el cual se considera dentro de lo aceptable.

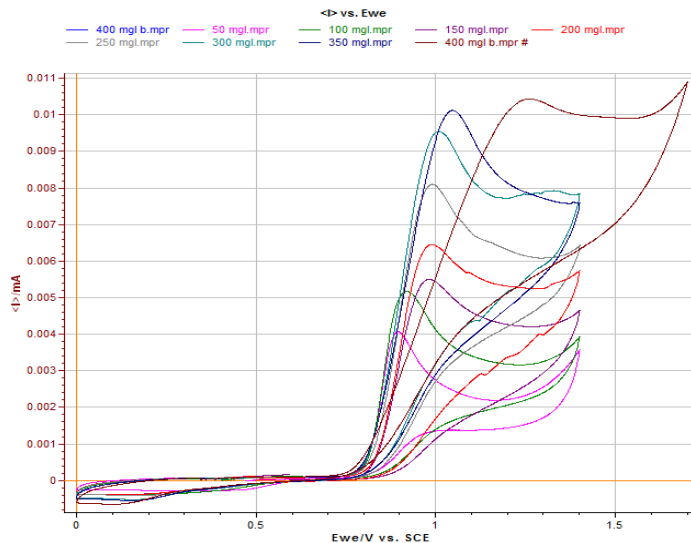


Figura 2 Voltamperograma de la curva de calibración

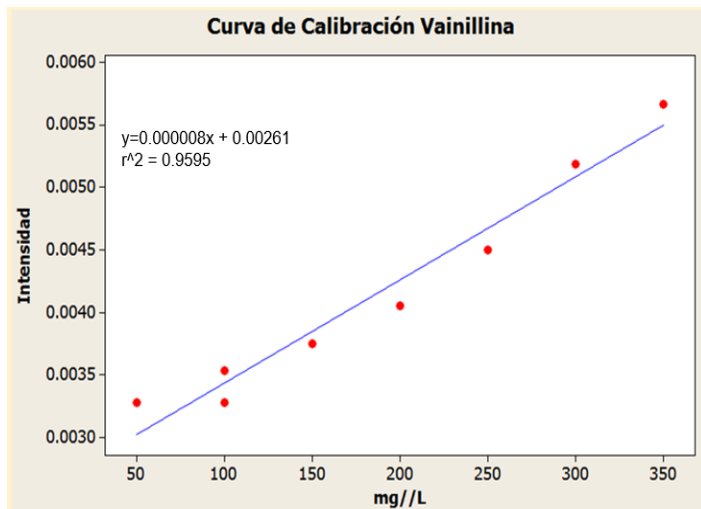


Figura. 3 Curva de calibración

Para la electrosíntesis se realizó el barrido del electrolito soporte, siendo éste de NaOH a distintos pH's. Usando una velocidad de barrido de 10 mV/s y una ventana de trabajo de 0-2.5 V. Para confirmar la ausencia de picos, que pudieran ser confundidos por las señales esperadas.

Se realizó la síntesis a los distintos pH's elegidos, mostrando en la Figura 4 el de pH=13.82 con las condiciones antes descritas en metodología de velocidad de barrido de 10 mV/s y una ventana de trabajo de 0-1.4 V.

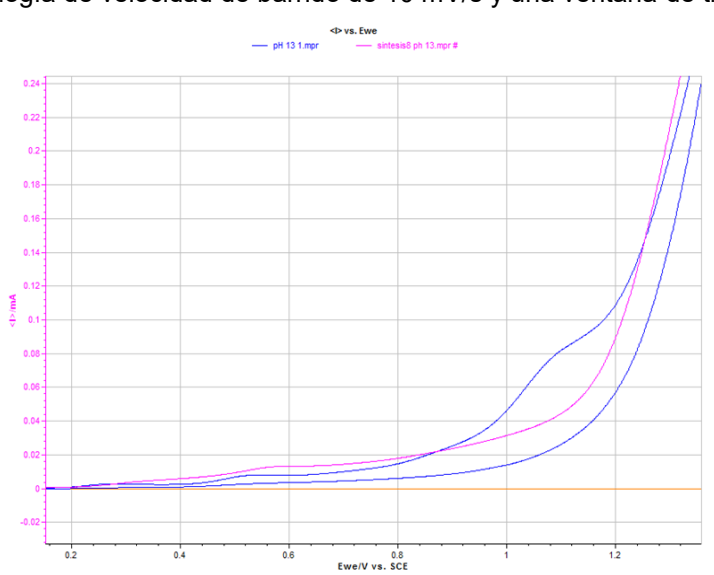


Figura 4 Voltamperograma de las síntesis a pH 13.82

En el voltamperograma de la Figura 4 se encuentran los tres ensayos realizados a dicho pH, en el cual no se logra observar un pico en la zona de 0.9-1.1 V, solo en uno de los casos dicha señal es más notoria. Se realizaron 3 ensayos a pH= 10, mostrados en el voltamperograma de la Figura 5, usando las mismas condiciones antes descritas.

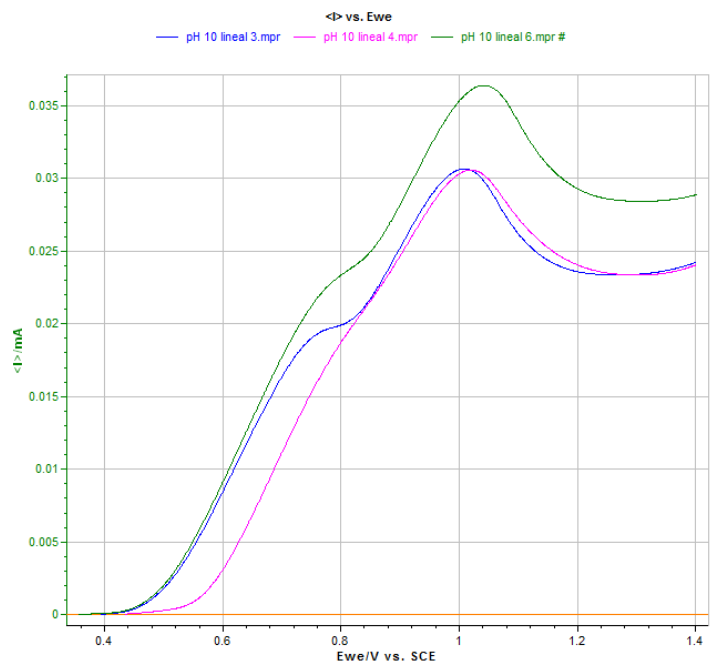


Figura 5 Voltamperograma de las síntesis a pH 10

En el voltamperograma de la Figura 5 se observa un pico en la zona de 0.9 - 1.1 V, el cual es característico de la vainillina, además se observa un pico anterior al esperado, el cual se le atribuye a la oxidación que se lleva a cabo en el mecanismo antes propuesto. Igualmente se realizaron 3 réplicas a pH=7, mostradas en la Figura 6.

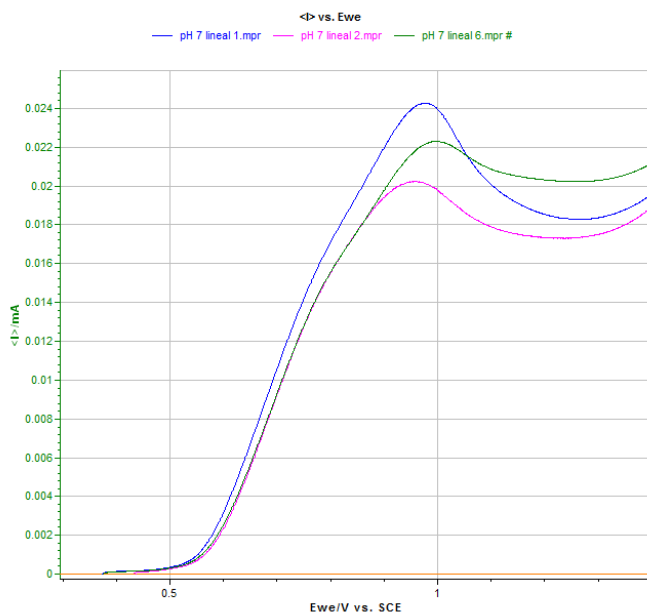


Figura 6 Voltamperograma de la síntesis a pH 7

En el voltamperograma de la Figura 6 se observa un pico en la zona esperada de potencial, perteneciente al pico de oxidación de la vainillina en este caso el pico de oxidación, propuesta en la reacción no es tan notoria que en el caso de la síntesis a pH 10. Con los valores de intensidad obtenidos se concentraron los resultados en la

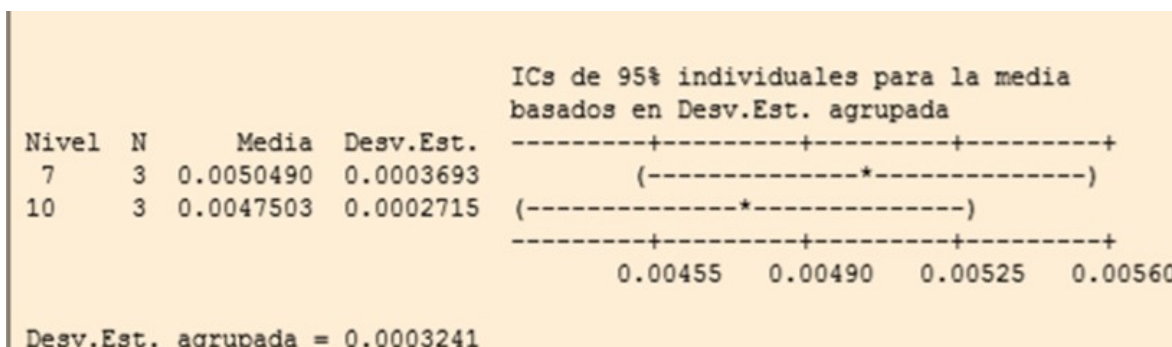
Tabla 2, en la cual se observa todo el concentrado de los resultados obtenidos de las síntesis; a partir de la intensidad de cada prueba y con ayuda de la curva de calibración se obtuvo la concentración, sabiendo que la intensidad del pico es proporcional a la concentración.

Tabla 2. Concentrado de resultados de la síntesis

Prueba	Intensidad (mA)	Pico de señal (V)	Concentracion (mg/L)	% de conversión
1	0.005449	0.9777	354.88	88.72
2	0.004977	0.9625	295.93	73.98
3	0.004721	0.9993	263.63	65.90
pH 10				
1	0.004574	0.9900	245.50	61.37
2	0.004614	1.0180	250.00	62.50
3	0.005063	1.0370	306.62	73.65
pH 13.82				
1	0.005554	1.1010	368.00	92.00
2	-	-	-	-
3	-	-	-	-

Inicialmente se tenía 0.01 g de VMA que corresponde a 400 mg/L, a partir de este dato y con la concentración final obtenida, se calculó el % de conversión. En cuanto al pH de 13.82 dichos cálculos no se realizaron ya que solo se tiene el dato de una prueba, esto porque las síntesis que se intentaron realizar posteriormente perdían el pico característico de la vainillina lo que se especula se da por una reacción de condensación, es decir, formación de enolatos. Se realizó un análisis estadístico para los valores obtenidos en la Tabla 2. En cuanto al pH de 13.82 dichos cálculos no se realizaron por la razón explicada anteriormente. En la Figura 7 está el análisis de medias para los valores de pH 7 y 10, la línea negra corresponde a la media grupal, mientras que las rojas indican los límites de media para un intervalo de confianza del 95%. Se observa la media de pH 7 por encima de la media grupal, lo contrario a la media de pH 10, por lo que se deduce que se tienen mayores % de conversión de VMA a vainillina en un pH 7, en comparación con pH 10. En las Tablas 3 y 4 se muestra el análisis de comparación entre los datos obtenidos.

Tablas 3. Análisis de comparación entre los datos obtenidos.



En el ANOVA (Tabla 4) se analizaron las varianzas de los picos obtenidos con la curva de calibración y las síntesis realizadas a pH 7 y 10 ($\alpha = 0.05$). Al tener un valor muy bajo del estadístico F, implica un alto valor para la probabilidad, por lo tanto al ser el valor de probabilidad obtenido (0.8506) es imposible rechazar la hipótesis nula, que para el proyecto en específico implica que en la aparición de los picos en X (V) no hay diferencia estadísticamente significativa, asegurando que dichos picos corresponden a la vainillina.

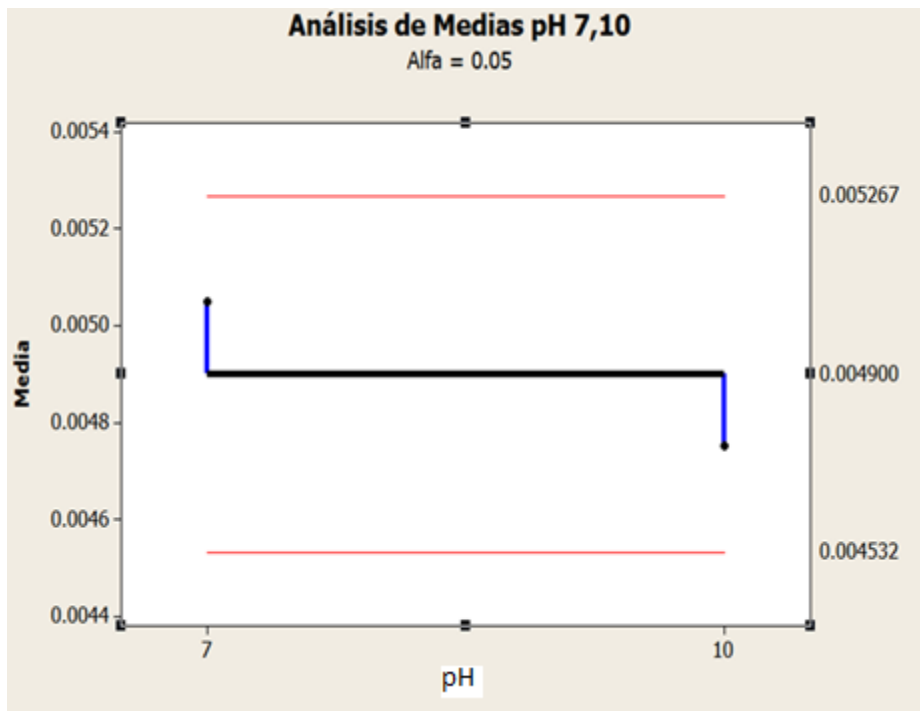


Figura 7. Análisis de medias

Tabla 4. Análisis de comparación entre los datos obtenidos (ANOVA)

RESUMEN						
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
Estándar	8	8.1215	1.0151875	0.013800238		
pH=7	3	2.9395	9.7983E-01	0.000341973		
pH=10	3	3.045	1.015	0.000559		
ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.002937793	2	0.001468897	0.164199885	0.850614247	3.982297957
Dentro de los grupos	0.098403615	11	8.9458E-03			
Total	0.101341409	13				

En la realización de la parte experimental se observaron diversos factores los cuales pueden afectar a la reacción, a pesar de haberse propuesto una síntesis en medio básico, se observó un % de conversión bastante alto igual en un medio neutro, por lo que se puede deducir que dicha reacción puede llevarse a cabo en ambos pHs solo que con un mecanismo de reacción diferente al propuesto, al igual se observó un decaimiento en la cantidad de vainillina sintetizada a lo largo del tiempo, esto se le atribuye a la posible segunda reacción que se da por el medio básico presente, esto en base a que la vainillina es un aldehído aromático y este grupo funcional presenta reacciones con bases fuertes tales como el hidróxido de sodio, que pueden dar lugar a la formación de enolatos. En base a lo escrito en la introducción se llegó a la propuesta de mecanismo de reacción (Figura 8)

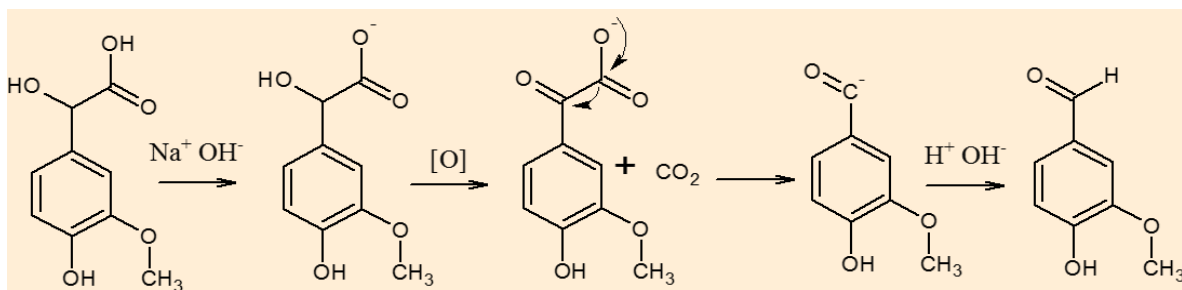


Figura 8. Mecanismo de reacción

En la cual se lleva a cabo la reacción en un medio básico, al llevarse a cabo la oxidación, la descarboxilación ocurre por la misma presencia del medio básico, el cual genera la liberación de CO_2 y debido a la presencia de un medio acuoso, se observa una hidrólisis del agua para completar el protón faltante en la estructura, el cual genera el aldehído aromático final.

CONCLUSIONES

Se logró llevar a cabo la síntesis de la vainillina mediante el uso de la técnica de voltamperometría, los tiempos de reacción se vieron disminuidos en comparación del método de síntesis tradicional y en base al análisis estadístico se obtuvieron mejores porcentajes de conversión a pH 7.

BIBLIOGRAFIA

1. Bard, A.J. (2001). *Electrochemical Methods, Fundamentals and Applications*. New York: John Wiley & Sons.
2. Beyer, Wolfgang Walter. (1987). Compuestos aromáticos. En *Manual de Química orgánica*(573-573). España: Reverté.
3. Chavez, M., Domine, M. (2013). Lignina, estructura y aplicaciones: métodos de despolimerización para la obtención de derivados de interés industrial. *Avances en Ciencias e Ingenierías*. ISSN: 0718-8706.
4. Deng, P., Xu, Z., Zeng, R., & Ding, C. (2015). Electrochemical behavior and voltammetric determination of vanillin based on an acetylene black paste electrode modified with graphene-polyvinylpyrrolidone composite film. *Food Chemistry*, 180, 156-163. doi:10.1016/j.foodchem.2015.02.035
5. Gomis, J.A. (1996). *Síntesis electroquímica de p-hidroxibenzaldehído a partir de ácido p-hidroximandélico (tesis de doctorado)*. Universidad de Alicante.
6. Sequeira, C. A., & Santos, D. M. (2009). Electrochemical routes for industrial synthesis. *J. Braz. Chem. Soc. Journal of the Brazilian Chemical Society*, 20(3). doi:10.1590/s0103-50532009000300002
7. Beyer, Wolfgang Walter. (1987). Compuestos aromáticos. En *Manual de Química orgánica*(573-573). España: Reverté.

ETNOBOTÁNICA DE SAN PEDRO ATLIXCO, PUEBLA

Graciela Hernández Martín, María de los Ángeles Montero Vela, Lucero Montserrat Cuautle García

Facultad de Ciencias Biológicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

RESUMEN

Las plantas juegan un papel muy importante en el desarrollo del hombre, en 1896, Harshberger acuñó el término etnobotánica y lo definió como “el estudio de las plantas utilizadas por los pueblos primitivos”. El conocimiento, distribución y uso de las plantas medicinales en el estado de Puebla está poco documentado, principalmente en ecosistemas tan vulnerables como las selvas bajas caducifolias. La junta auxiliar de San Pedro Atlixco en el Municipio de Tianguismanalco, Puebla cuenta con esta vegetación; y el objetivo de esta investigación es documentar el uso de plantas medicinales en San Pedro Atlixco y hacer propuestas de conservación biológica. Se realizaron 60 encuestas semi-estructuradas con cuatro colectas de ejemplares para la realización de un catálogo de campo y la incorporación en un herbario. Se registraron un total de 38 Familias con 70 especies, la familia más utilizada es Asteraceae, seguida de Rutaceae, la especie más utilizada es Manzanilla (*Matricaria chamomilla*) seguida de Ruda (*Ruta chalepensis*) y la hierbabuena (*Mentha spicata*). La mayoría de las plantas son utilizadas para el dolor de estómago, generalmente utilizando toda la planta y las hojas. El 84.28% de las personas usan la infusión como una forma de preparación; la mayoría obtienen las plantas de su traspatio, monte o zonas riparias de la comunidad. Sin embargo, las especies nativas se usan cada vez con menor frecuencia. Los habitantes de la comunidad de San Pedro Atlixco mencionan que el conocimiento y uso medicinal de las plantas es adquirido de generación en generación, pero es necesaria una estrategia de conservación, que permita a largo plazo la permanencia de muchas especies nativas.

INTRODUCCIÓN

Las plantas han jugado un papel muy importante en el desarrollo del hombre, en 1896, Harshberger acuñó el término etnobotánica y lo definió como “el estudio de las plantas utilizadas por los pueblos primitivos”. En las últimas décadas la Etnobotánica ha adquirido una gran importancia científica porque es una disciplina inter y multidisciplinaria, además de ser una herramienta importante para comprender los procesos ecológicos y socioculturales de la conservación de la biodiversidad (Lagos & et al, 2011). Por su gran riqueza florística y diversidad cultural, América Latina constituye una de las regiones del mundo más importantes desde el punto de vista etnobotánico, (Lagos & et al, 2011). Méndez González menciona que el conocimiento del uso medicinal de las plantas se manifiesta básicamente en dos niveles: primero el conocimiento de dominio popular manejado al nivel del núcleo familiar; el segundo es el que manejan los médicos tradicionales quienes poseen un conocimiento más profundo, amplio y especializado (Méndez & et al, 2016) .Para la elección de una determinada planta hay modalidades empíricas que implican el uso de extractos totales como las infusiones y decocciones, realizadas con toda la planta o una parte como hojas, flores, cortezas, etcétera (Hersch, 2009).

El uso de plantas medicinales para curar algunos malestares es una práctica muy común en muchos países. El conocimiento, distribución y el uso de las plantas medicinales en el estado de Puebla está muy arraigado, debido a la diversidad cultural, ecológica y biológica que alberga.

La selva baja caducifolia también conocida como bosque tropical deciduo entre otros nombres que se le atribuyen, presenta comunidades vegetales dominadas por árboles pequeños de aproximadamente 15 m de altura que pierden sus hojas durante la época seca del año. Ocupa aproximadamente el 11.26% de la superficie nacional y se encuentra desde Sonora hasta Chiapas y desde el sur de Tamaulipas al norte de Yucatán (CONABIO, Biodiversidad Mexicana, 2012), sin embargo hay cerca de 56 mil hectáreas ubicadas en pequeñas porciones de Puebla, Hidalgo, Oaxaca y Morelos .Su riesgo de desaparición se debe principalmente a actividades antrópicas principalmente para la agricultura y ganadería (Zulueta & et al., 2006).La selva baja caducifolia tiene una gran importancia gracias a su particular riqueza florística y su elevada proporción de endemismos, además de que provee a los mercados regionales, nacionales e internacionales productos alimentarios, medicinales, condimenticios, de madera para construcción, para actividad artesanal y leña (Zulueta & et al., 2006).

El conocimiento, distribución y uso de las plantas medicinales en el estado de Puebla está poco documentado, principalmente en ecosistemas tan vulnerables como las selvas bajas caducifolias. La junta auxiliar de San Pedro Atlixco en el Municipio de Tianguismanalco, Puebla cuenta con esta vegetación; y el objetivo de esta investigación es documentar el uso de plantas medicinales en San Pedro Atlixco y proporcionar una propuesta para su conservación.

TEORIA

Son pocos los estudios que se han hecho sobre las plantas medicinales de la selva baja caducifolia; en un trabajo realizado por Martínez *et al.* (2012) sobre plantas útiles y prioritarias de la mixteca poblana reportaron un total de 265 especies de plantas silvestres de las cuales una de las categorías de uso con mayor importancia fueron las medicinales; estos resultados fueron obtenidos en dos comunidades del municipio de Chietla. La razón del mayor grado de aprecio de las plantas medicinales, alimenticias y para construcción en ambas comunidades, puede deberse a que este tipo de vegetación constituye una fuente natural de productos de primera necesidad (Martínez & *et al.*, 2012). En San Rafael Coxcatlán se reportó un total de 46 especies de plantas medicinales usadas pertenecientes a 28 familias, en este estudio la familia Asteraceae fue la más registrada, ya que se trata del grupo más representado para la vegetación de esa zona, de estas especies 47.8% son silvestres, 28.2% se cultivan en huertos y 23.9% son plantas medicinales que se adquieren en mercados; la alta proporción de especies silvestres muestra una dependencia que se tiene en la comunidad de su entorno vegetal natural para aliviar diversos malestares (Canales & *et al.*, 2006). En un estudio etnobotánico en la comunidad de San Juan de los Ríos Cháutla, Puebla, se reportaron nueve categorías antropocéntricas, destacando que la medicinal es la más importante con el 57% de especies útiles, principalmente para enfermedades o padecimientos digestivos con 21% y respiratorios con el 17% (Martínez G. , 2007). De igual manera en tres localidades de la Sierra Negra de Puebla se destaca como la familia más importante Asteraceae, la partes más utilizadas de las plantas son la hoja o la planta completa, la mayoría de la especies útiles son herbácea (Valiente, 2011).

En la región de Acapulco Guerrero se realizó un estudio donde analizaron los usos tradicionales de las plantas y se observó que casi un 80% de las plantas están relacionadas a enfermedades gastrointestinales. Algunas de estas plantas son indicadoras de los principales problemas con los que se enfrenta la Población que son cuestiones de higiene, ya que la mayoría de las comunidades rurales como El Zapotillo, Laguna de Tres Palos carecen de agua potable (Alatorre, Cano, & Otero, 2009). En una investigación realizada en el estado de Aguascalientes se registraron 196 especies de plantas medicinales, cada una de ellas se integró a un catálogo el cual contiene aspectos relacionados con las plantas como propiedades que se les atribuyen, el modo de empleo y el estatus con respecto a su escasez o abundancia (García G. , 2015).

El valor de uso muestra la importancia de cada especie entre todas las mencionadas, en San Bartolo Tutotepec Oaxaca se realizó un estudio en donde se calculó el valor de uso solo para plantas medicinales; propuesto por Phillips *et al.* (1994) y se obtuvo que las especies con un alto valor de uso fueron: *Jaegeria macrocephala* (árnica) y *Hamelia patens* (tres hojitas), seguida de *Oenothera rosea* (Hierba del golpe) y *Solanum nigrescens* (hierba mora; (Callejas, 2006).

PARTE EXPERIMENTAL

El estudio se realizó en la junta auxiliar de San Pedro Atlixco que está situado en el Municipio de Tianguismanalco (**Figura 1**), localizado en la parte centro oeste del estado de Puebla, sus coordenadas geográficas son los paralelos 18° 57' 18" y 19 ° 03' 12" de latitud norte y los meridianos 98° 24' 42" y 98° 34' 00" de longitud oeste, a una altitud de 2180 msnm (INAFED). Presenta principalmente dos tipos de climas, el templado subhúmedo con lluvias en verano y el clima semifrío subhúmedo con lluvias en verano (INEGI, 2009). El tipo de vegetación varía debido a la cercanía con el volcán Popocatepetl y por la orografía inclinada. Algunas especies animales que predominan en la zona son el coyote (*Canis latrans*), venado (*Odocoileus virginianus*), conejo (*Sylvilagus spp.*), jabalí (*Pecari tajacu*), cuervo (*Quiscalus mexicanus*), gavián (*Accipiter striatus*), búho o tecolote (*Bubo spp.*), codorniz (*Cyrtonyx montezumae*), reptiles como la serpiente de cascabel (*Crotalus spp.*), el falso coralillo (*Lampropeltis sp.*) y las chirrioneras (*Masticophis sp.*) Al sureste se encuentra la región más calurosa del municipio dominando el macizo montañoso compuesto mayormente por roca caliza, donde se presentan asociaciones de tipo selva baja caducifolia hasta matorrales de palma (BANOBRAAS,

2002). En San Pedro Atlixco la actividad más importante es la agrícola; presenta una población aproximada de 1,486 habitantes (INAFED).

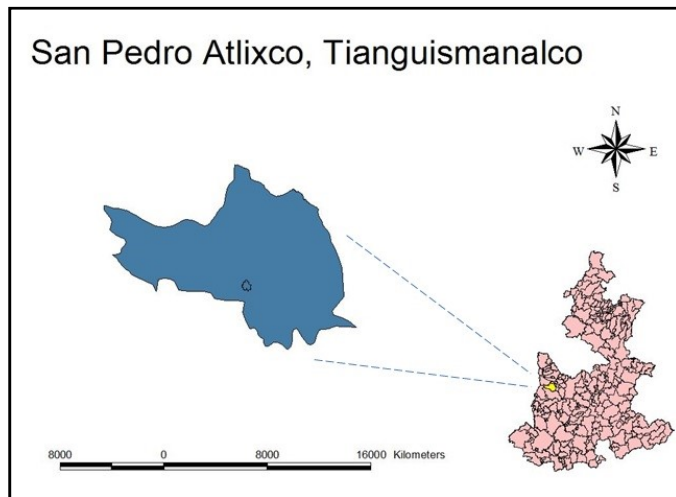


Figura 1. Mapa de localización de San Pedro Atlixco

Se realizaron 60 encuestas semi-estructuradas del 20 de Septiembre al 15 de Noviembre del 2016, sobre el uso de las plantas medicinales; en la cual se menciona el nombre común de la planta, la parte utilizada, forma biológica, los síntomas o la enfermedad, forma de preparación, vía de administración, tiempo de efecto, de donde se obtiene la planta, además de datos generales del encuestado. Se recopiló y analizó la base de datos obtenida para posteriormente realizar las colectas botánicas de los ejemplares mencionados por los habitantes de la comunidad, cada planta fue geo-referenciada con un GPS (GARMIN 62s). Se realizaron tres colectas botánicas en las siguientes fechas: 29 de Noviembre, 7 de Diciembre del 2016 y 10 de Enero del 2017, cada especie de planta se colectó por duplicado, se colocaron en periódico y se enumeraron con un orden progresivo; se realizaron los recorridos de campo en compañía de algunos informantes para localizar a las plantas y con ello asegurar que fueran las mencionadas por ellos en las encuestas.

Posteriormente fueron llevados a la Facultad de Ciencias Biológicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla para colocarlos en la secadora a una temperatura de 40°C (Genlab Limited 110-240 volts) durante periodos de 24 horas o más dependiendo del tipo de planta; además para cada uno de los ejemplares se colocó la ficha de colecta con los siguientes datos: número de colecta, familia, nombre científico, nombre común, lugar, coordenadas, altitud, tipo de vegetación, forma biológica, fecha y colector. Después de la herborización los ejemplares fueron identificados con ayuda de claves dicotómicas (citados en la bibliografía) y el apoyo de un experto.

Para el análisis de datos se obtuvo porcentajes, además se cuantificó la distribución porcentual de las familias, aplicando la fórmula (1) de abundancia de Monroy *et al.* (1996).

$$P \text{ de Es.F.} = \frac{\text{Total de especies por familia}}{\text{Total de especies de todas las familias}} \quad (1)$$

Donde P de Es. F = proporción de las especies por familia botánica. Para calcular el valor de uso de las plantas medicinales fue usada la fórmula (2) propuesta por Phillips *et al.* (1994) que se muestra a continuación:

$VU = \sum U/n$, donde:
VU= Valor de uso de una especie
U= Número de citas por especie
n= Número de informantes (2)

RESULTADOS

De las 60 personas encuestadas en la Junta Auxiliar de San Pedro Atlixco el 72% son hombres y el 28% mujeres, 30 personas son amas de casa, 13 son estudiantes, 10 son campesinos, y el resto realizan otras actividades. Los encuestados se encuentran en un rango de edad de 13-33 años con 21 personas, los cuales presentaron mayor disponibilidad para contestar aunque mencionaron un bajo número especies, en cambio las personas que se encuentran en el rango de 54-73 años, mencionan un mayor número especies. Se registraron un total de 70 especies, que pertenecen a 66 géneros y 38 familias botánicas. Se colectaron 49 especies, dos se compraron en el mercado, 19 no se compraron ni colectaron debido a que son especies de interés agronómico o porque son especies que no se encontraban en el sitio de estudio. La Familia más utilizada es Asteraceae (11 spp., 16.17%), seguida de Lamiaceae (7 spp., 10.26%) y Rutaceae (4 spp., 8.88%) (Tabla 1).

Tabla 1. Familias botánicas con mayor número de especies en San Pedro Atlixco.

Familia	No. de Géneros	No. de Especies	% de Especies
Asteraceae	11	11	16.17
Lamiaceae	7	7	10.29
Rutaceae	4	4	5.88
Rosaceae	3	3	4.41
Poaceae	3	3	4.41

La especie más utilizada es Manzanilla (*Matricaria chamomilla*) seguida de Ruda (*Ruta chalepensis*) y la hierbabuena (*Mentha spicata*) (Figura 2).

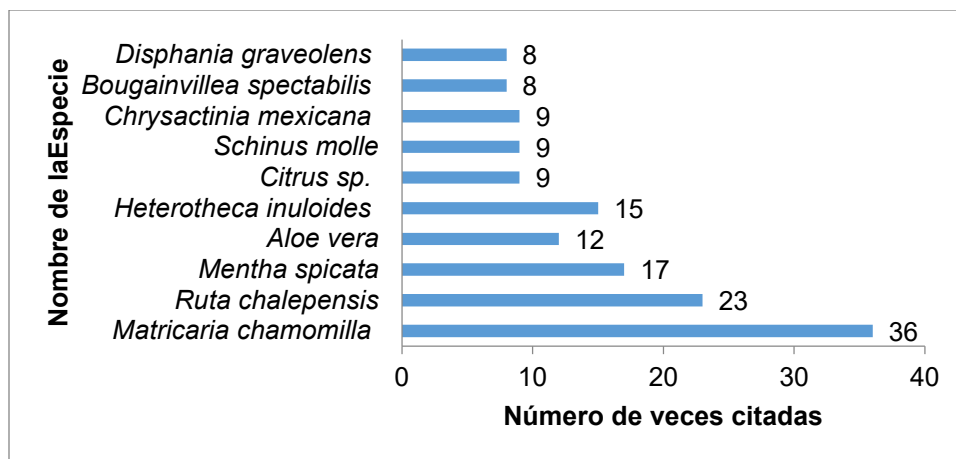


Figura 2. Especies más utilizadas: Manzanilla (*Matricaria chamomilla*), Ruda (*Ruta chalepensis*), Hierbabuena (*Mentha spicata*), Sábila (*Aloe vera*), Árnica (*Heterotheca inuloides*), Limón (*Citrus sp.*), Pirul (*Schinus molle*), Calanca (*Chrysactinia mexicana*), Bugambilia (*Bougainvillea spectabilis*), Epazote de zorrillo (*Disphania graveolens*).

Las formas biológicas mejor representadas son la herbácea (47.14%) seguida de la arbórea (32.85%) y las que son arbusto (12.85%) (Tabla 2).

Tabla 2. Forma biológica en relación al número de especies.

Forma de vida	No. de especies	%
Hierba	33	47.14
Árbol	23	32.85
Arbusto	9	12.85
Otro	3	4.28
Enredadera	1	1.42
Epífita	1	1.42

Las personas utilizan con mayor frecuencia las hojas y toda la planta, la parte menos usada es la cáscara (**Tabla 3**)

Tabla 3. Partes de la planta que son utilizados en relación al número de especies.

Partes usadas	No. de especies	%
Hoja	33	47.14
Toda la planta	24	34.28
Flor	98	12.85
Otro	6	8.57
Cáscara	5	7.14

Generalmente la forma de preparación de las plantas es por medio de infusión con un 84.28%, la vía de administración más empleada es la oral con 62% .Se registraron cinco lugares de obtención de las plantas medicinales, donde la mayoría se obtienen del traspatio (54%) y el monte o zonas riparias (47.14%) como segunda opción, mercado (28.57%), vecino (20%) y Huerto (5.71%).

Respecto a la obtención del valor de uso de cada especie, el cual indica la importancia cuantitativa del significado cultural, se tiene que las especies con un alto valor de uso son: *Matricaria chamomilla* y *Ruta chalepensis*, seguidas de *Mentha spicata*, *Heterotheca inuloides* y *Aloe vera* (**Tabla.4**). Se sugiere que cuando una especie presenta mayor valor de uso es porque ésta ya fue sometida a una selección a través del tiempo y por lo tanto la probabilidad de que sea efectiva es mayor (Hernández, Canales, Caballero, Durán, & Lira, 2005).

Tabla.4 Valor de uso de las plantas medicinales.

Especie	Valor de uso
<i>Matricaria chamomilla</i>	0.6
<i>Ruta chalepensis</i>	0.38
<i>Mentha spicata</i>	0.28
<i>Heterotheca inuloides</i>	0.25
<i>Aloe vera</i>	0.2

La mayor parte de las plantas medicinales se relacionan con el sistema digestivo (39 spp., con 55.71%), lo cual concuerda con Alatorre, Cano y Otero (2009) aunque o en San Pedro Atlixco si cuentan con el servicio de agua potable puede verse afectada por los desechos que son arrojados a los ríos de una granja piscícola o por la misma gente del pueblo. De igual manera por su cercanía con el volcán Popocatepetl la caída de ceniza puede contaminar el agua ya que pequeñas cantidades de cenizas pueden reducir la potabilidad del agua y aunque el riesgo de intoxicación es bajo, el pH puede verse reducido o la clorificación inhibida (IVHHN, s.f).El siguiente sistema es el excretor o urinario (14 spp; 14.28%) y los padecimientos del sistema respiratorio (9 spp; 12.85%). Para los padecimientos culturales también se tiene una importante cantidad de plantas (8 spp; 11.42%) (**Tabla 5**).

Tabla 5. Número de especies de uso medicinal por aparato o sistema reportadas en San Pedro Atlixco.

Aparatos o sistemas	Enfermedades	No. de plantas usadas	%
Muscular	Mialgia	6	8.57
	Astenia		
Óseo	Relajar cuerpo (bebé)	2	2.85
	Dolor de huesos		
Respiratorio	Sellar huesos fracturados	9	12.85
	Tos		
Digestivo	Amigdalitis	39	55.71
	Resfriado		
	Dolor de estómago		
	Disentería		
	Hernias		
	Gastritis		
	Hígado		
	Trastornos de la vesícula biliar(Bilis)		
	Derrame biliar		
	Dientes flojos		
Excretor o urinario	Parasitosis intestinal	10	14.28
	Diarrea		
	Cólicos de bebé		
	Infecciones del estómago (niños)		
	Estreñimiento		
	Fortalecer a diabéticos		
	Infecciones de la lengua		
	Insuficiencia renal (Riñón)		
	Prostatitis		
	Infección de las vías urinarias		
Circulatorio	Cistitis (Mal de orín)	6	8.57
	Hipertensión esencial (primaria)		
Hormonal o endocrino	Embolia y trombosis arteriales	6	8.57
	Hemorroides		
Nervioso	Insuficiencia cardíaca	5	7.14
	Parálisis facial		
-Aparato ocular	Estrés	5	7.14
	Conjuntivitis		
Reproductor	Induce el trabajo de parto	3	4.28
	Dismenorrea		
Linfático	Fiebre	4	5.71
	Heridas/Inflamación		
Inmunológico	Caspa del cabello (Furfurácea)	6	8.57
	Sarna		
Epidermis y tejido subcutáneo	Sarna	8	11.42
	Mal de aire		
- Cuero cabelludo	Recaída post-parto	8	11.42
	Empacho		
Cultural	Dolor de pies	6	8.57
	Bajar de peso		
	Resaca		
	Alcoholismo		

(CIE 10, 2003) Modificado para este trabajo.

El aporte de este trabajo en cuanto la diversidad de plantas medicinales es significativa principalmente para la junta auxiliar debido a que no existe un registro de estas plantas, además de que se ha perdido parte de estas especies silvestres, ocasionando que ahora las tengan que cultivar en su traspatio o adquirirlas en un mercado. Principalmente está perdida de vegetación es por su actividad agrícola y ganadera, lo cual concuerda con Zulueta *et al* (2006) donde mencionan que el riesgo de desaparición de la selva baja caducifolia se debe a actividades antrópicas.

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en esta junta auxiliar muestran que las plantas medicinales aún son una buena opción para combatir algunos síntomas o enfermedades que no sean graves, cuando se presenta un dolor muy agudo acuden al centro de salud más cercano. Es importante destacar que del total de las especies registradas en este trabajo ninguna se encuentra en la NOM-059.

El ecosistema de selva baja caducifolia que se encuentra en esta zona ha sido perturbado principalmente por las actividades económicas que son agricultura y ganadería además de que obtienen carbón y material para construcción como piedras. La población comenta que anteriormente podían obtener muchas plantas medicinales dentro de este ecosistema pero conforme ha pasado el tiempo han ido desapareciendo lo cual puede deberse principalmente al pastoreo de ganado y a la desvalorización de este tipo de vegetación ya que aunque es un lugar con turismo rural y se desconoce el gran valor que tiene.

El conocimiento del uso de las plantas medicinales en San Pedro Atlixco es transmitido de generación en generación es decir que va de padres a hijos principalmente, aunque también comparten esta información con algunos vecinos. La información recabada en este estudio es básica en la colaboración de programas de manejo de recursos a beneficio de la comunidad aún más para una revalorización y concientización de la comunidad por sus propios recursos y conocimiento acerca de ellos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alatorre, J., Cano, E., & Otero, R. (2009). Catálogo florístico de las plantas medicinales de la selva baja subcaducifolia de Acapulco México. *Boletín. Instituto de Estudios Giennenses*, 231-288.
2. Altieri, M. (1999). *Agroecología Bases científicas para una agricultura sustentable*. Lima: Editorial Nordan-Comunidad.
3. Alvarez, R. D.-T. (2011). Coordinating ability of anions and solvents towards transition metals and lanthanides. *Dalton Transactions*, 40, 10742.
4. Alvarez, R. D.-T. (2011). Coordinating ability of anions and solvents towards transition metals and lanthanides. *Dalton Transactions*, 40, 10742.
5. BANOBRAS. (2002). *PROGRAMA MUNICIPAL DE DESARROLLO URBANO DE ATLIXCO, PUEBLA*. ATLIXCO, PUEBLA.
6. Bettencourt-Dias, A. d. (2014). *Luminescence of Lanthanide Ions in Coordination Compounds and Nanomaterials*. John Wiley & Sons.

7. Bonnier, G., & De Layens, G. (1999). *Claves para la determinación de plantas vasculares*. Barcelona: Ediciones Omega, S.A.
8. Boyd, M. (1987). *Química Orgánica*. México: Pearson.
9. Calderón de Rzedowski, G., & Rzedowski, J. (2001). *Flora Faberogámica del Valle de México*. Pátzcuaro, Michoacán: Instituto de Ecología, A.C.
10. Callejas, C. M. (2006). *Flora Medicinal de San Bartolo Tutotepec, Hidalgo*. Pachuca de Soto, Hidalgo: UAEH.
11. Canales, M., & et al, .. (2006). Análisis cuantitativo del conocimiento tradicional de las plantas medicinales en San Rafael, Coxcatlán, valle de Tehuacán-Cuicatlán, Puebla, México. *Acta Botanica Mexicana*, 21-43.
12. Céspedes, M. (2005). *Agricultura Orgánica Principios y prácticas de producción*. Chillán: Instituto de Investigaciones Agropecuarias.
13. CIE 10, O. P. (2003). *CIE10, Clacificación Estadística Internacional de las Enfermedades y Problemas Relacionados con la Salud*. Ginebra: Ginebra,OMS 1992.
14. CONABIO, C. N. (2011). En CONABIO. Puebla, México: Gobierno del estado de Puebla.
15. CONABIO, C. N. (2011). Insectos de Puebla. En G. d. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, *La biodiversidad en Puebla. Estudio de Estado* (págs. 142-148). México.
16. CONABIO, C. N. (2012). Biodiversidad Mexicana. Recuperado el 4 de Diciembre de 2016, de Selvas Secas: <http://www.biodiversidad.gob.mx/ecosistemas/selvaSeca.html>
17. DGCS-UNAM. (14 de Julio de 2013). *Dirección general de comunicación social* . Obtenido de http://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2013_425.html
18. Duward F. Shriver, P. W. (1998). *Química inorgánica, Volumen 2*. Reverte.

19. Flores, J. S. (1995). *La contaminación y sus efectos en la salud y el ambiente*. México, D. F.: Centro de Ecología y Desarrollo.
20. García, G. (2015). *Plantas medicinales de Aguascalientes*. México: Universidad Autónoma de Aguascalientes.
21. García, I., & Vázquez, B. (2002). *Catálogo de Plantas Medicinales del Hospital Integral con Medicina Tradicional de Coxcatlán*. Puebla: Gobierno del Estado de Puebla.
22. García, I., & Vázquez, B. (2002). *Catálogo de Plantas Medicinales de Plantas Medicinales del Hospital Integral con Medicina Tradicional de Huehuetla*. Puebla: Gobierno del Estado de Puebla.
23. García, I., & Vázquez, B. (2002). *Catálogo de Plantas Medicinales del Hospital Integral con Medicina Tradicional de Huehuetla*. Puebla: Gobierno del Estado de Puebla.
24. García, I., & Vázquez, B. (2002). *Catálogo de Plantas Medicinales del Hospital Integral con Medicina Tradicional de Tulcingo del Valle*. Puebla: Gobierno del Estado de Puebla.
25. Gómez, A., Gómez, L., Pulido, M. T., & Sánchez, S. (2015). *Catálogo de Plantas Medicinales y otros Usos de la Sierra Otomí-Tepehua Hidalgo*. Hidalgo: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
26. Gónzales, M., Lorena, L., Socorro, G. M., & Tena, J. A. (2014). *Plantas Medicinales del Estado de Durango y Zonas Aledañas*. México: Instituto Politécnico Nacional.
27. Guzmán Palma Jesús Antonio, R. R. (2015). *Determinacion de metales pesados en el grano de maiz (CB-052)*. Atitalaquia: -.
28. Hernández, T., Canales, M., Caballero, J., Durán, Á., & Lira, R. (2005). Análisi cuantitativo del conocimiento tradicional sobre plantas utilizadas para el tratamiento de enfermedades gastrointestinlaes en Zapotitlán de las Salinas, Puebla, México. *Interciencia*, 17-27.

29. Hersch, M. P. (2009). La flora medicinal en comunidades indígenas. En S. d. Nación muticultural-UNAM, *Estado del desarrollo económico y social de los pueblos indígenas de Guerrero*. Mexico.
30. INAFED. (s.f.). *Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México*. Recuperado el 20 de Septiembre de 2016, de INAFED:
<http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM21puebla/municipios/21175a.html>
31. INEGI. (2009). *Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos Atlixco, Puebla*. Recuperado el 02 de Diciembre de 2016, de
<http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/datos-geograficos/21/21019.pdf>
32. IVHHN, L. R. (s.f). LOS PELIGROS DE LAS CENIZAS VOLCÁNICAS PARA LA SALUD .
33. Joby Sebastian, D. S. (2014). Effects of method of preparation on catalytic activity of Co-Zn double-metal cyanide catalysts for copolymerization of Co₂ and epoxide. *Applied A: General, General 482*, 300-308.
34. Krap, C. P. (2010). Nuevos materiales para almacenamiento de hidrogeno en nanocavidades. México.
35. Lagos, W. S., & et al. (2011). Manual de Herramientas Etnobotánicas relativas a la Conservación y el Uso Sostenible de los Recursos Vegetales. En L. Lagos, D. Sanabria, P. Chacón, & G. Randall, *Estrategia Global para la Conservación* (págs. 1-134). Chile: Red Latinoamericana de Botánica (RLB).
36. M. D. Allendorf, C. A. (2009). Luminescent metal–organic frameworks. *Chemical Society Reviews*, *38*, 1330–1352.
37. Martínez, A., & et al. (2012). PLANTAS SILVESTRES ÚTILES Y PRIORITARIAS IDENTIFICADAS EN LA MIXTECA POBLANA, MÉXICO. *Acta Botánica Mexicana*, 73-98.
38. Martínez, G. (2007). Estudio etnobotánico en la comunidad de San Juan de los Ríos, Chiautla, Puebla. *Tesis de Licenciatura*.

39. Méndez, M. E., & et al. (2016). Flora medicinal. En *Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán* (págs. 349-352). Mérida: Yucatán.
40. Mendoza, H. (1985). *Guía Del Cultivo De Higuierilla*. Ecuador: INAP.
41. Métivier, P. (2000). *Studies in Surface Science and Catalysis*. 130, 167.
42. Mondragón, L. (2007). *Producción de jitomate en invernadero*. Estado de México, México: Gobierno del Estado de México. Secretaría de Desarrollo Agropecuario. Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria Acuícola y Forestal del Estado de México, ICAMEX.
43. Ortega, G. (Diciembre de 2009). *FAO*. Obtenido de <http://www.baseis.org.py/wp-content/uploads/2014/03/1395155082.pdf>
44. Pérez, P. M. (2009). Plantas medicinales: un complemento vital Para la salud. *Revista Digital Universitaria*, 1-9.
45. Rodriguez, M., Villaseñor, J. L., Coombes, A. J., & Ceron, A. B. (2014). *Flora del Estado de Puebla, México*. Mexico: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
46. Rzedowski, J. (1991). Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México. *Acta Botánica Mexicana*, 3-21.
47. SAGARPA. (Agosto de 2010). *SAGARPA*. Obtenido de <http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/documents/pablo/documentos/monografias/jitomate.pdf>
48. Sauve, S. H. (2000). *Solid- Solution Partitioning of Metals in Contaminated Soils: Dependence on pH, Total Metal Burden, and Organic Matter*. -: Environmental Science Technology.
49. Styring, S. (2012). Artificial photosynthesis for solar fuels. *Faraday Discussions*, 155, 357-376

50. Universidad Autónoma de Tlaxcala. (2011). *Catálogo Botánico Ilustrado de Tepetates en Tlaxcala*. Tlaxcala: Universidad Autónoma de Tlaxcala.
51. Valiente, I. (2011). *Inventario Etnobotánico en tres localidades de la Sierra Negra, Puebla*. Puebla: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
52. Villavicencio, M. A., & Pérez, B. E. (2013). *Plantas Medicinales del Estado de Hidalgo*. Pachuca de Soto: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
53. Wai-Kwok Wong, X. Y.-K. (2006). Multinuclear Luminescent Schiff-Base Zn–Nd Sandwich Complexes. *Inorganic Chemistry*, *45*(11), 4340–4345.
54. Wei-Yu Bi, X.-Q. L.-L.-J.-R.-K. (2008). Synthesis, structure and near-infrared (NIR) luminescence of three solvent-induced pseudo-polymorphic complexes from a bimetallic Zn–Nd Schiff-base molecular unit. *Inorganic Chemistry Communications*, *11*, 1316–1319.
55. Yanling Liang, C. Y. (2013). Prussian blue analogues as heterogeneous catalysts for epoxidation of styrene. *Royal Society of Chemistry*, *0*, 1-3.
56. Zulueta, R., & et al. (Enero-Abril de 2006). ¿Es útil la flora de la selva baja caducifolia de México? *La ciencia y el hombre. Revista de divulgación científica y tecnológica de la Universidad Veracruzana*. Recuperado el 4 de Diciembre de 2016, de La ciencia y el hombre: <http://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol19num1/articulos/flora/>

ESTUDIO DE LA HIGUERILLA (*RICINUS COMMUNIS*) PARA LA FITOREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON METALES PESADOS EN EL MUNICIPIO DE ATITALAQUIA HIDALGO

Gómez Vilchis Jesica Citlali, Martínez Guerrero Fany Lorena, Contreras Bárbara José Roberto, González Monroy Blanca Eva

Instituto Tecnológico de Atitalaquia

RESUMEN

Desde hace aproximadamente 100 años el suelo de cultivo del Valle del Mezquital, Hidalgo, se irriga con aguas negras provenientes de la Zona Metropolitana del Valle de México, por tal motivo los cultivos como el maíz, frijol, chile, etcétera, se ven afectados con diversas concentraciones de metales pesados. Estudios previos realizados por estudiantes del Instituto Tecnológico de Atitalaquia, han encontrado la presencia de cinc, plomo, níquel entre otros metales en los suelos de cultivo. Huang (2011) realizó un estudio del uso de la higuera para la captación de cadmio y encontró resultados alentadores. En este proyecto se propone un estudio de fitoremediación de los suelos de cultivo a partir del uso de higuera (*Ricinus Communis*) y determinar la cantidad de metales pesados que ésta soporta, analizando raíz, tallo, hojas y semilla. Se tomaron muestras de la higuera y posteriormente se analizaron por medio de espectroscopia de absorción atómica. Mediante los estudios realizados, se encontró que ésta planta tiene la presencia de plomo y cinc, cabe destacar que la concentración es diferente en cada parte de la planta, teniendo una mayor concentración de plomo en el tallo y de cinc en la semilla.

INTRODUCCIÓN

Día con día la contaminación de suelos por metales pesados crece debido a actividades humanas tales como; la liberación de efluentes industriales, emisiones vehiculares, actividades agrícolas, entre otras, alterando así el estado de equilibrio de un ecosistema, esto debido a la adición de sustancias que en condiciones normales no se encuentran presentes, o que, si lo están, han aumentado o disminuyendo significativamente su capacidad normal. Como consecuencia a esto, se han generado efectos desfavorables para todos los seres vivos.

En la Región del Valle del Mezquital en el Estado de Hidalgo, una de las principales actividades realizadas es la agricultura, puesto que más del 50% de la población viven de ella.

De acuerdo a datos obtenidos del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) (Martínez, 2015)

- ✓ 60% de la superficie de riego en el Estado de Hidalgo usan aguas negras provenientes de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México
- ✓ 39% aguas blancas (de pozos y lluvias)
- ✓ 0.38% aguas residuales tratadas

Es decir que la mayoría de los suelos de cultivo se irrigan con agua sin ningún tratamiento, teniendo así posibles problemas de contaminación en los cultivos.

Para el tratamiento de suelos contaminados por metales pesados existen diversas tecnologías de remediación, entre ellas está la fitorremediación, uno de los métodos de más bajo costo para la descontaminación de suelos por metales pesados.

Existen algunos trabajos de investigación para la fitoremediación de suelos contaminados, como los realizados por el equipo multidisciplinario e interinstitucional encabezado por Manuel Jiménez Estrada, del Departamento de Productos Naturales del Instituto de Química (IQ) de la UNAM, él investigó plantas que extraen metales pesados de suelos contaminados. Tras años de búsqueda, el científico encontró junto con Isabel Saad de la Facultad de Ciencias, algunas que desempeñan esa función de manera efectiva, entre ellas, muy comunes como el marrubio (*Marrubium Vulgare*) y la higuera (*Ricinus Communis*). La contaminación del suelo, se enfrenta a la presencia añeja de metales pesados, como mercurio, plomo y cadmio. De éstos, sobresale el primero, traído por los españoles durante la época virreinal para extraer y purificar oro y plata, lo que provocó su uso en grandes cantidades, sobre todo, en el centro del país, en entidades como Hidalgo, Guerrero, Guanajuato, Zacatecas y San Luis Potosí, relató. (DGCS-UNAM, 2013).

TEORÍA

El término contaminación se refiere a la introducción o incremento anormal de sustancias que pueden ejercer un efecto dañino sobre los organismos en los ecosistemas. (Bautista, 1999). Es uno de los problemas ambientales más importantes que afectan a nuestro mundo y surge cuando se produce un desequilibrio, como resultado de la adición de cualquier sustancia al medio ambiente, en cantidad tal, que cause efectos adversos en el hombre, animales y plantas expuestos a dosis que sobrepasen los niveles aceptables en la naturaleza (Flores, 1995).

Los metales pesados contribuyen fuertemente a la contaminación ambiental, la cantidad de metales disponibles en el suelo está en función del pH, contenido de arcillas, contenido de materia orgánica, capacidad de intercambio catiónico y otras propiedades que las hacen únicas en términos de manejo de la contaminación (Sauve, 2000).

La consecuencia directa es la eliminación de la vegetación o la pérdida de su producción y la disminución de la biodiversidad; indirectamente se produce la dispersión del contaminante a través del aire y las aguas superficiales y subterráneas (Bradshaw, 1993; Wong, 2003), pudiendo llegar a zonas de cultivo.

El término fitorremediación hace referencia a una serie de tecnologías que se basan en el uso de plantas para limpiar o restaurar ambientes contaminados, como agua, suelos, e incluso aire. Puede definirse como una tecnología sustentable que se basa en el uso de plantas para reducir *in situ* la concentración o peligrosidad de contaminantes orgánicos e inorgánicos de suelos, sedimentos, agua, y aire, a partir de procesos bioquímicos realizados por las plantas y microorganismos asociados a sus sistemas de raíz que conducen a la reducción mineralización, degradación, volatilización y estabilización de los diversos tipos de contaminantes. En México es necesario crear recursos humanos y financieros en este campo emergente (Núñez, 2004).

La higuera (*Ricinus Communis*) es una especie vegetal que crece de forma silvestre en la Región del Valle del Mezquital. No tiene competencia con cultivos alimenticios, fácil adaptación en suelos contaminados con metales pesados, incrementan sus posibilidades como cultivo alternativo útil para la remediación de suelos. (Mendoza, 1985).

En la actualidad no existen datos precisos de la superficie sembrada de higuera ni de niveles de producción de semilla, principalmente debido a que en nuestro país no es considerado un cultivo sino más bien una maleza. Sin embargo, hay pocos estudios sobre la capacidad fitoextractora de metales pesados de esta especie. Por todo lo anterior se propone el estudio de la higuera (*Ricinus Communis*) de la especie que crece en la Región del Valle del Mezquital, para la fitorremediación de suelos contaminados por metales pesados.

PARTE EXPERIMENTAL

El estudio de la planta de *Ricinus Communis* (raíz, tallo, semilla y hoja) se llevó a cabo en suelo de cultivo de la comunidad del Dendho Atitalaquia, Hidalgo. Se analizaron las muestras por medio de espectroscopia de absorción atómica, en el Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria, Acuícola y Forestal del Estado de México. En el cual se estudiaron los metales, Pb y Zn que son los más abundantes encontrados anteriormente. (Guzmán Palma Jesús Antonio, 2015).



Figura 1. Terreno ubicado en la colonia Dendho Atitalaquia Hidalgo, lugar donde se tomaron las muestras para la parte experimental



Figura1. Toma de muestra de la hoja (Higuerilla Ricinus Communis)



Figura 2. Extracción de la raíz y tallo de la planta para su experimentación



Figura 3. Toma de muestra de las semillas

RESULTADOS

En la tabla 1 se muestran las concentraciones obtenidas de plomo (Pb) y zinc (Zn) en la higuera.

Parámetro	Unidad	Raíz	Tallo	Hoja	Semilla
Plomo	ppm	15.84	19.76	15.98	19.92
Cinc	ppm	63.39	47.43	-	505.97

Tabla 1. Concentraciones de plomo (Pb) y zinc (Zn) presentes en una muestra de la planta Ricinus Communis.

CONCLUSIONES

Mediante los estudios realizados por espectroscopia de absorción atómica, de Plomo (Pb) y Zinc (Zn) en la Higuera, se encontró que ésta planta tiene la presencia de los mismos metales, cabe destacar que la concentración es diferente en cada parte de la planta.

Gracias a los resultados obtenidos, se puede implementar un control de contaminación de metales pesados en los suelos agrícolas del Valle del Mezquital, porque como se sabe, se seguirá irrigando con las mismas aguas, así que el problema de contaminación quizá nunca termine, solo puede llevarse un control sustentable de ello.

Otra opción que se encuentra con estos resultados, es la de implementar esta técnica en pequeños cultivos realizados en casa, ya que ahí sí se puede tener un control.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. D. Bradshaw, "Restoration Ecology as a Science", Restoration Ecology, Vol. 1, 1993, pp. 71-73.
2. DGCS-UNAM. Dirección general de comunicación social. http://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2013_425.html
3. F. Bautista Zúñiga, "Introducción al estudio de la contaminación del suelo por metales pesados", (Ediciones de la Universidad Autónoma de Yucatán), 1999, pp 17.

4. F. d Muestreo, www.fertilab.com.mx/sitio/visita/manual-de-muestro-3ra-edicion.pdf
5. H. Huang, N. Yu, L. Wang, D. Gupta, Z. He, K. Wang, Z. Zhu, X. Yan, T. Li, X. Yang, "The phytoremediation potential of bioenergy crop *Ricinus Comunnis* for DDTs and cadmiun co-contaminated soil", *Bioresurce Technology*, Vol. 102, 2011 pp. 11034.
6. H. Mendoza, *Guía Del Cultivo De Higuierilla*. (Ecuador: INAP.)
7. J. S. Flores, *La contaminación y sus efectos en la salud y el ambiente* (México, D. F: Centro de Ecología y Desarrollo.)
8. J. A Guzmán Palma y col. *Determinación de metales pesados en el grano de maíz (CB-052)*. Memorias de Congreso de la Sociedad Química de México, 2016, Pachuca de Soto Hidalgo.
9. N. Y. Treviño, *Fitoremediación de Plomo y Arsénico con higuierilla en asociación con micorrizas*. (Durango, México.)
10. R.A Núñez López, Y. Meas Vong, R. Ortega Borges, E.J Olgúin, "Fitorremediación: fundamentos y aplicaciones" 2004, pp 69.
11. S. H. Sauve, "Solid- Solution Partitioning of Metals in Contaminated Soils: Dependence on pH, Total Metal Burden, and Organic Matter", *Environmental Science & Technology*, Vol. 34, 7, 2000, pp. 1125 – 1131.
12. J. A. Velázquez, "Caracterización fenotípico y molecular de genotipos de higuierilla (*Ricinus Comunnis*) para la producción de biodiesel". Tesis Doctoral, 2012, Universidad Autónoma de Nuevo León, México.

SÍNTESIS ONE POT DE COMPUESTOS ORGÁNICOS DE INTERÉS EN QUÍMICA MEDICINAL MEDIANTE METODOLOGÍAS AMIGABLES CON EL MEDIO AMBIENTE.

Alicia Elvira Cruz Jiménez, Ángel Rentería Gómez, María del Rocío Gámez Montaño.

Departamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato. Noria Alta S/N, Guanajuato; México. ae.cruzjimenez@ugto.mx

RESUMEN

En el presente trabajo se describe la síntesis one pot de compuestos orgánicos de interés en química medicinal que contienen los anillos de tetrazol y de furano mediante la Reacción de Multicomponentes de Ugi-Azida (RMC UA) en rendimientos de buenos a excelentes.

INTRODUCCIÓN

El diseño de nuevas metodologías verdes o sustentables que permitan sintetizar moléculas de interés en química medicinal representa un área poco explorada y de gran impacto en síntesis orgánica.¹

Las reacciones de multicomponentes (RMCs) son procesos convergentes que combinan tres o más sustratos para la formar compuestos que contienen todos o la mayoría de los átomos presentes en los materiales de partida.²

Los tetrazoles son un grupo de compuestos de interés en química medicinal por sus propiedades farmacológicas.³ El anillo de furano es utilizado para optimizar los parámetros de solubilidad y la biodisponibilidad de moléculas poco solubles (figura 1).⁴

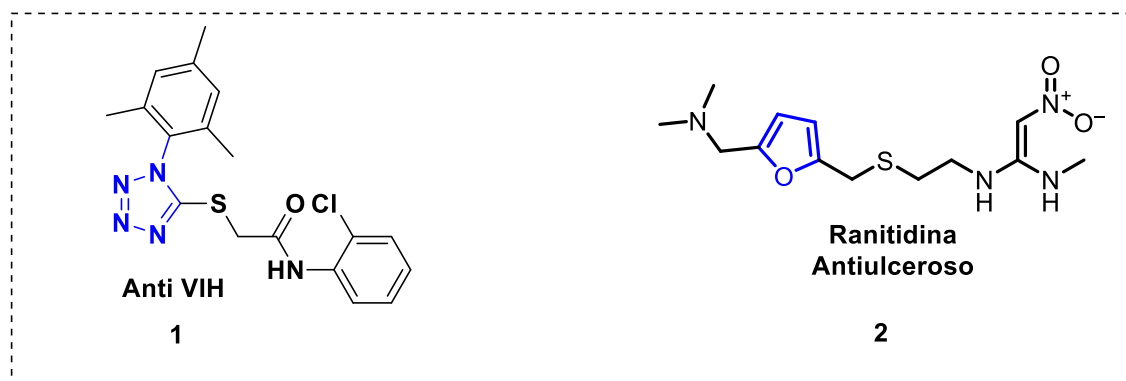
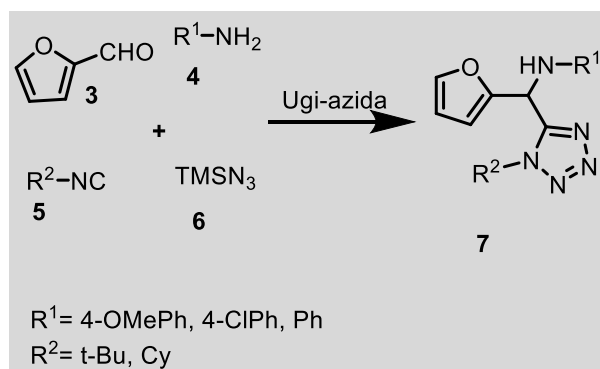


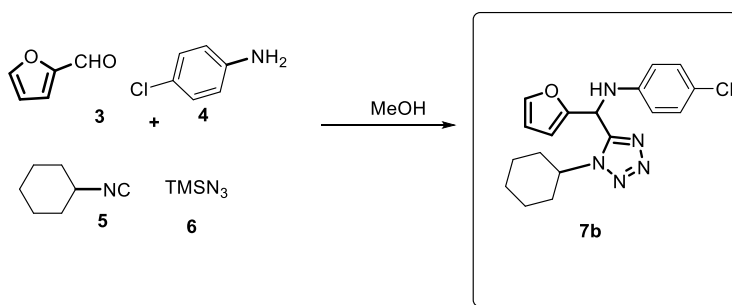
Figura 1. Tetrazoles 1,5-disustituídos y furanos con propiedades farmacológicas.

PARTE EXPERIMENTAL

La estrategia propuesta en el presente trabajo se basa en la RMC Ugi-azida utilizando materiales de partida accesibles, como el furaldehído **3**, amina **4**, isonitrilo **5** y trimetilsililazida (TMSN₃) **6** para la síntesis de tetrazoles 1,5-disustituídos que contienen en el C-5 el anillo de furano **7** (Esquema 1).

**Esquema 1.** Estrategia de síntesis propuesta**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La síntesis de compuestos 7a-e se llevó a cabo mediante la RMC Ugi-azida. (Tabla 1).

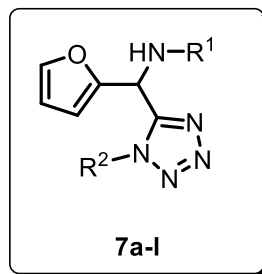


Entrada	Temperatura	Disolvente	Tiempo	Catalizador	Rendimiento %
1	t.a.	H ₂ O	24 h	---	45
2	t.a.	CH ₃ CN	24 h	---	70
3	t.a.	EtOH	24 h	---	80
4	t.a.	<i>i</i> -PrOH	24 h	---	79
5	t.a.	MeOH	24 h	---	90
6	t.a.	-----	24 h	---	20

Tabla 1. Condiciones de optimización.

Como se observa en la tabla 1, en relación al uso de diferentes disolventes polares, al utilizar agua (entrada 1), el rendimiento fue menor (45%), debido a la poca solubilidad de las materias primas, en acetonitrilo, disolvente aprótico favorece la RMC de Ugi-azida, incrementando el rendimiento (entrada 2). Con el propósito de utilizar un disolvente más verde, se llevaron a cabo experimentos en etanol e isopropanol (entrada 4 y 5), sin embargo, no se logró incrementar el (entrada 5). Aunque la reacción UA ha sido poco reportada libre de solvente, se realizó el experimento (entrada 6), sin embargo, el rendimiento no fue mejorado.

La síntesis de análogos 7a-e se realizó utilizando las condiciones clásicas para la RMC de UA. Los rendimientos obtenidos fueron de moderados a buenos, como puede observarse en la siguiente tabla (Tabla 2):



7	R¹	R²	Rendimiento
a	4-OMePh	<i>t</i> -Bu	90%
b	4-ClPh	<i>t</i> -Bu	93%
c	Ph	<i>t</i> -Bu	93%
d	4-ClPh	Cy	90%
e	Ph	Cy	96%

Tabla 2. Rendimientos obtenidos.

La caracterización de los compuestos se realizó mediante el análisis espectroscópico de RMN ¹H y ¹³C. En el espectro de ¹H se observa la señal característica como un doblete a casi 5 ppm y se asigna al protón del metino, base del anillo del tetrazol, ya que en este convergen todos los componentes, la multiplicidad de la señal como un doblete resulta de la interacción de los protones del grupo metino y amino, además en ¹³C se observan las señales del metino y del carbono *ipso* del anillo de tetrazol, observando así que los aductos poseen los componentes del anillo de tetrazol 1-5 disustituído y el furaldehído (Figuras 2 y 3).

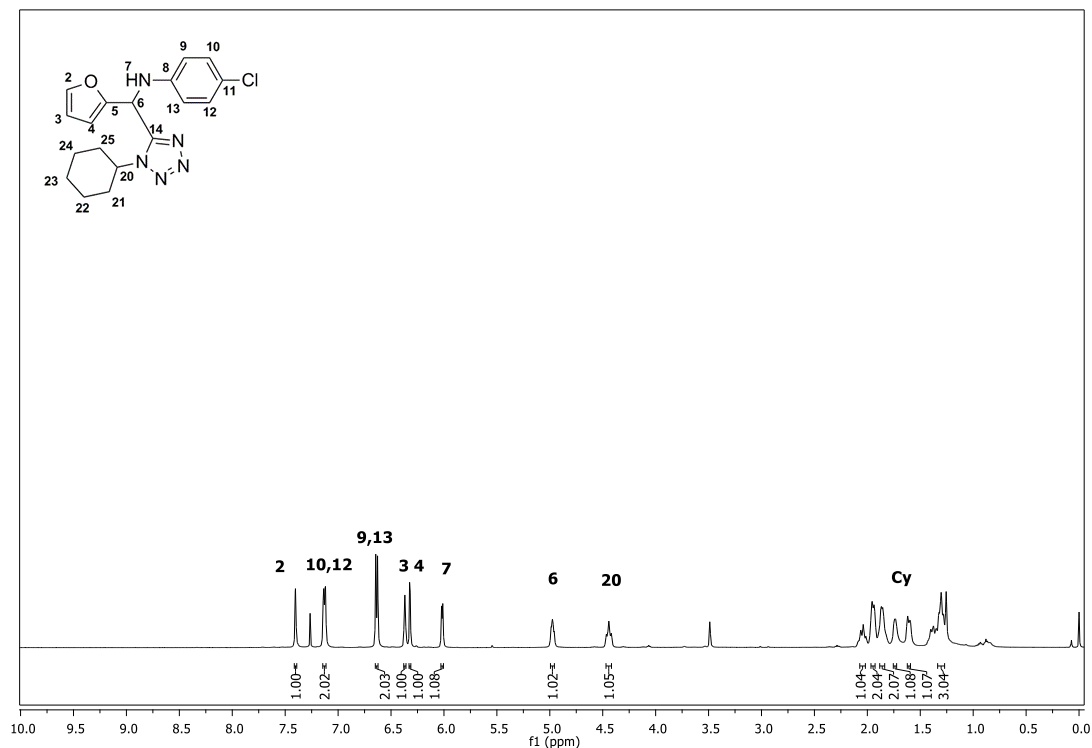


Figura 2. Señal clave de RMN ^1H de los productos de la RMC Ugi-azida.

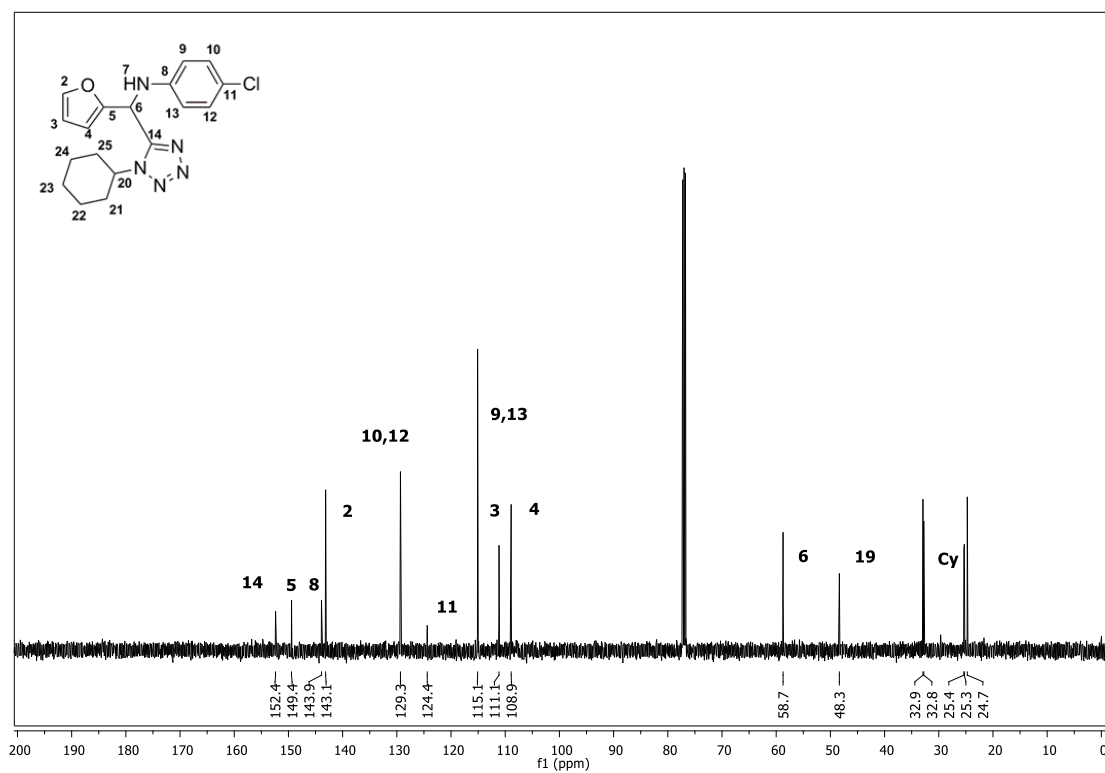
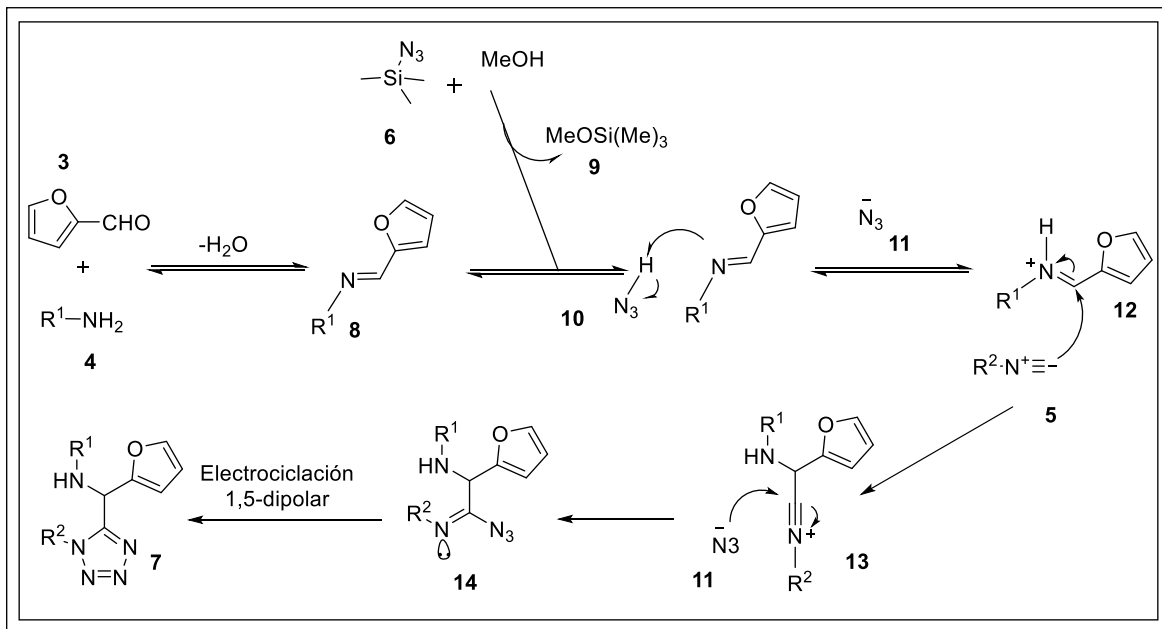


Figura 3. RMN ^{13}C de los productos de la RMC Ugi-azida.

El mecanismo de reacción propuesto es el siguiente (Esquema 2):



Esquema 2. Mecanismo de reacción la RMC Ugi-azida.

CONCLUSIONES

Se logró el objetivo del presente trabajo al sintetizar mediante la RMC de UA, una familia de compuestos los cuales contienen en su estructura dos anillos: tetrazol 1,5- disustituidos y furano en rendimientos buenos a excelentes.

La metodología desarrollada presenta una contribución en el área de síntesis de compuestos vía RMC de UA, que contienen en su estructura los anillos de tetrazol y furano, de interés en química medicinal. No existen reportes en la literatura de metodologías para la síntesis de heterociclos que contengan tetrazoles 1,5-disustituidos y el anillo de furano por procesos multipasos u one pot.

BIBLIOGRAFÍA

1. S. B. Jones, B. Simmons, A. Mastracchio, D. MacMillan, *Nature*. Vol. 475, 7355, 2011, pp. 183-188.
2. M. B. Unnamatla, A. Islas-Jácome, A. Quezada-Soto, S. C. Ramírez-López, M. Flores-Álamo, R. Gámez-Montaño. *J. Org. Chem.* Vol. 81, 2016, pp. 10576-10583. b) A. Rentería-Gómez, A. A. E. Islas-Jácome, Cruz-Jiménez, J. C. Manzano-Velázquez, S. Rojas-Lima, J. O. C. Jiménez-Halla, R. Gámez-Montaño, *ACS Omega*. Vol. 1, 2016, pp.943-951.
3. S. Pharande A. R. Corrales R. Gámez-Montaño. *Green Chem.* 2017, DOI: 10.1039/C6GC03324; b) P. A. Cano, A. Islas-Jácome, J. González-Marrero, L. Yépez-Mulia, F. Calzada, R. Gámez-Montaño. *Bioorg. Med. Chem.* Vol. 22, 4, 2014, pp. 1370-1376.
4. R. Banerjee, H. K. S. Kumar, M. Banerjee Medicinal significance of furan derivatives: A Review. *Int. J. Rev. Life. Sci.* Vol. 2(1), 2012, pp. 7-16.

DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE CALIDAD Y COMPUESTOS BIOACTIVOS EN FRESA MEDIANTE ESPECTROSCOPIA MIR-FTIR ACOPLADA A QUIMIOMETRÍA

Minutti-López Sierra, Patricia; Meza-Márquez, Ofelia Gabriela; Gallardo-Velázquez, Tzayhrí Guadalupe.

Depto. de Ingeniería Bioquímica. Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas-Zacatenco. Av. Luis Enrique Erro S/N, Unidad Profesional Adolfo López Mateos, Zacatenco, Delegación Gustavo A. Madero. C.P. 07738. Ciudad de México, D.F.

Depto. de Biofísica. Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas-Santo Tomás. Prolongación de Carpio y Plan de Ayala S/N. Santo Tomás. Delegación Miguel Hidalgo. C.P.11340. Ciudad de México, D.F. (omezam@ipn.mx)

RESUMEN

Se desarrollaron modelos quimiométricos acoplados a Espectroscopia Infrarroja Media por Transformada de Fourier (MIR-FTIR) con Reflectancia Total Atenuada (ATR) para identificar 10 variedades de fresa cultivadas en México y predecir parámetros de calidad (contenido de sólidos solubles, acidez total, azúcares reductores y pH) y compuestos bioactivos (ácido ascórbico, compuestos fenólicos totales, antocianinas, flavonoides y capacidad antioxidante) en las mismas.

Se determinaron los parámetros mencionados mediante técnicas analíticas con la finalidad de establecer una relación matemática entre éstos y los espectros infrarrojos, y así construir modelos quimiométricos capaces de predecir dichos parámetros en muestras desconocidas utilizando los algoritmos Mínimos Cuadrados Parciales con y sin interacción de variables (PLS1 y PLS2) y Regresión de Componentes Principales (PCR). Los resultados obtenidos de los análisis químicos concuerdan con los reportados en la literatura. El algoritmo PLS1 desarrolló el mejor modelo predictivo al obtener valores de R^2 más altos y valores de SEC y SEP más bajos en comparación con los modelos desarrollados con los otros dos algoritmos (PLS2 y PCR). Por otro lado, el modelo quimiométrico SIMCA (Soft Independent Modeling Class Analogy) logró identificar adecuadamente las 10 variedades de fresa analizadas y es capaz de determinar si las muestras desconocidas pertenecen o no a las variedades de fresa con las que se construyó el modelo.

INTRODUCCIÓN

La fresa es una de las bayas más consumidas y cultivadas en todo el mundo, es buena fuente de compuestos bioactivos y vitamina C. Recientemente, se ha incrementado la necesidad de determinar parámetros de calidad y compuestos bioactivos en la fresa debido a su relevancia comercial. Los métodos convencionales suelen presentar inconvenientes en cuanto a tiempo de análisis, preparación de la muestra y costo (McGlone et al., 2003), por lo que en años recientes, la aplicación de técnicas estadísticas multivariadas ha ganado cada vez más atención con el fin de desarrollar métodos rápidos para la clasificación y predicción de constituyentes químicos específicos. Por tanto, en este trabajo se desarrolló una alternativa de análisis para identificar variedades de fresa (modelo SIMCA) y cuantificar parámetros de calidad (sólidos solubles totales, acidez total, azúcares reductores y pH) y compuestos bioactivos (ácido ascórbico, compuestos fenólicos totales, antocianinas, flavonoides y capacidad antioxidante) en 10 variedades de fresa cultivada en México mediante espectroscopia infrarroja media acoplada a quimiometría, ya que esta técnica no utiliza reactivos ni disolventes, es rápida y prácticamente no requiere de un pre-tratamiento de la muestra, lo que conlleva a una reducción en costos y tiempo de análisis.

PARTE EXPERIMENTAL

Materia prima

El Consejo Nacional de la Fresa (CONAFRESA) proporcionó 10 variedades de fresa: Albión, Camino Real, Celin, Dorado, Dulce Ana, Festival, Fortuna, Osceola, San Andreas y Spartan en diferentes estados de madurez cultivadas en México. La fresa se lavó con agua corriente y se dejó secar expuesta al aire. Posteriormente, cada variedad se clasificó en diferentes estados de madurez de acuerdo con la escala establecida por la Norma Oficial Mexicana NMX-FF-062-SCFI-2002. Se asignó un código de tres letras correspondientes a la variedad y un número correspondiente al estado de madurez para facilitar la identificación de las muestras.

Reactivos y equipo de laboratorio

- 1,1-difenil-2-picrilhidracil (DPPH)- (SIGMA-ALDRICH®)
- 2,6 diclorofenol indofenol- (SIGMA-ALDRICH®)
- Ácido 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS) - (SIGMA-ALDRICH®)
- Ácido 3,5 -dinitrosalicílico (DNS)-(SIGMA-ALDRICH®)
- Ácido carboxílico 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2 (TROLOX) - (SIGMA-ALDRICH®)
- Reactivo Folin-Ciocalteu-(SIGMA-ALDRICH®)
- Espectrofotómetro UV/VIS-(Jenway 7305)
- Espectrofotómetro MIR-FTIR marca PerkinElmer (Norwalk, Connecticut, USA) modelo GX-FTIR, con accesorio de Reflectancia Total Atenuada (ATR) con cristal de Selenuro de Zinc (ZnSe) (Marca PerkinElmer, modelo 022-12xx)
- Potenciómetro-(Conductronic pH 120)
- Refractómetro de mano (Optika HR)
- Programas de computación para el análisis de espectros y análisis estadísticos:
 - *Spectrum (versión 5.3.1., PerkinElmer)
 - *AssureID Method Explorer (versión 4.0.2.0175 PerkinElmer)
 - *Spectrum QUANT+ (versión 4.51.02. PerkinElmer)
 - *MINITAB (versión 17.0)
 - *Microsoft Office (Excel 2013)

Determinación de parámetros de calidad

Los sólidos solubles totales (SST) se analizaron con un refractómetro de mano (Norma Oficial Mexicana NMX-FF-015-1982), los resultados se expresan en % SST. La acidez total se determinó con base en la Norma Oficial Mexicana NMX-FF-010-1982, los resultados se expresan en % de acidez. Los azúcares reductores se realizó con la técnica descrita por Miller (1959), los resultados se reportan como % de glucosa. El pH se determinó con un potenciómetro (Kafkas et al., 2007).

Determinación de compuestos bioactivos

Ácido ascórbico: Ranganna (1986), los resultados se expresan en mg de ácido ascórbico/100 g de peso fresco. Fenoles totales: Singleton y Rossi (1965), los resultados se expresan en mg de ácido gálico equivalentes/100 g de peso fresco. Antocianinas: Guisti y Wrolstad (2001), los resultados se expresan como equivalentes de cianidina-3-glucósido/100 g de peso fresco. Flavonoides: Zhishen et al. (1999), los resultados se expresan como mg equivalentes de quercetina/100 g de peso fresco. Actividad antioxidante: ABTS (Moura et al., 2007) y DPPH (Brand-Williams et al., 1995). Los resultados se expresan como μM de trolox por 100 g de peso fresco.

Obtención de espectros MIR-FTIR-ATR

Para obtener los espectros se colocaron aproximadamente 3 g de fresa macerada sobre el cristal de ZnSe, cubriendo su totalidad y evitando la formación de burbujas. Los espectros MIR-FTIR se promediaron y procesaron con el software Spectrum versión 3.01.00 (PerkinElmer, Inc.). Los espectros promedio se utilizaron para desarrollar los modelos quimiométricos.

Desarrollo del modelo quimiométrico cuantitativo (QUANT+)

Se alimentaron 40 espectros promedio MIR-FTIR-ATR junto con sus valores analíticos al programa estadístico de análisis Spectrum QUANT+ versión 4.51.02 (PerkinElmer, Inc.). Posteriormente se utilizaron los algoritmos PLS1, PLS2 y PCR con el fin de elegir el mejor modelo de calibración. Una vez calibrados los modelos se realizó la optimización de los mismos utilizando distintas herramientas con las que cuenta el programa Spectrum QUANT+. La selección del mejor modelo de calibración se llevó a cabo tomando en cuenta los siguientes criterios estadísticos: coeficiente de determinación (R^2) lo más cercano a 1 posible, error estándar de calibración (SEC) y error estándar de predicción (SEP) lo más bajos posible. Se llevó a cabo la validación externa con 10 muestras diferentes a las de la matriz de calibración con base en los siguientes parámetros estadísticos: valores

predichos, distancia de Mahalanobis ≤ 1 , relación de residuales ≤ 3 y coeficiente de determinación (R^2) lo más cercano a 1 posible.

Desarrollo del modelo quimiométrico cualitativo (SIMCA)

Se alimentaron al programa AssureID 40 espectros promedio MIR-FTIR-ATR. Una vez calibrado el modelo se llevó a cabo el proceso de optimación utilizando las herramientas con las que cuenta el programa. La selección del mejor modelo se realizó con base en: modelo sin muestras extremas, modelo sin poblaciones traslapadas, distancia interclase ≥ 3 , % reconocimiento y rechazo (100%). Posteriormente el modelo se validó con 10 espectros promedio distintos a los de la matriz de calibración con base en los siguientes criterios: muestra, material especificado, material identificado, resultado, distancia total ≤ 1 , distancia límite = 1, distancia del modelo = 0 y distancia residual ≤ 3 .

Aplicación de los modelos

Una vez validados los modelos se realizó la aplicación de los mismos con 5 muestras externas de fresa adquiridas de forma aleatoria.

RESULTADOS

Determinación de parámetros de calidad y compuestos bioactivos

Los resultados obtenidos del análisis se muestran en los Cuadros 1 y 2. La variabilidad encontrada fue significativa por medio de un análisis de ANOVA, ya que se obtuvieron valores con un nivel de confianza del 95% ($p \leq 0.05$). En el análisis de Tukey, la comparación entre las variedades de fresa mostró que hay variabilidad en los parámetros de calidad y compuestos bioactivos.

Parámetros de calidad

Los sólidos solubles totales (SST) varían de 6.53% en la variedad Dorado a 10.73% en Spartan, lo cual coincide con lo reportado en la literatura. Kader (1991) reporta un % SST en fresa estadounidense que varía de 4.6% a 11.9% y Voca et al. (2008) un %SST de 6% a 10.01% en fresa croata. Alcántara-González (2009) reportA un % SST de 8.87% a 11.3% en fresa mexicana. El % de acidez total varía de 0.53% en la variedad Osceola a 0.96% en la variedad Festival, valores que coinciden con los reportados por Kader (1991) que menciona que el % de acidez total en fresa estadounidense varía de 0.50% a 1.87% y Alcántara-González (2009) obtuvo 0.75% a 1.18% de acidez total en fresa mexicana. El % de glucosa varía de 1.10% en Festival a 3.10% en Osceola, valores similares a los reportados en la literatura de 1.4% a 3.10% en fresa estadounidense (Kader, 1991).El pH varía de 3.20 en San Andreas a 3.85 en Osceola. El intervalo de pH obtenido tras el análisis concuerda con los valores reportados por varios autores. Kader (1991) reporta un intervalo de pH de 3.18 a 4.10 en fresa estadounidense y Alcántara-González (2009) de 3.1 a 3.51 en fresa mexicana (Cuadro 1).

Cuadro 1 Parámetros de calidad de las variedades de fresa analizadas

Variedad	SST (%)	AT (%)	AR (% glucosa)	pH
Albi3n	7.86 -9.53	0.79-0.91	1.79-2.79	3.31 -3.52
Osceola	8.03 -10.50	0.53-0.70	1.88-3.10	3.54-3.85
Fortuna	7.60-9.06	0.75-0.92	1.82-2.73	3.26-3.43
Festival	7.33-8.86	0.79-0.96	1.10-2.45	3.24-3.48
Celin	8.60-10.66	0.59-0.70	2.29-2.50	3.59-3.75
Camino Real	7.13-8.66	0.75-0.92	2.10-2.30	3.26-3.70
Dorado	6.53-9.06	0.70-0.92	1.70-2.27	3.53-3.89
Spartan	8.83-10.73	0.57-0.83	1.97-2.65	3.55-3.79
Dulce Ana	6.83-9.80	0.75-0.93	1.58-2.26	3.37-3.44
San Andreas	8.00-8.93	0.76-0.95	1.62-1.88	3.18-3.48

SST: S3lidos Solubles Totales. AT: Acidez Total. AR: Az3c3ares Reductores

Compuestos bioactivos

El contenido de ácido ascórbico en las muestras analizadas varía de 15.80 mg/100 g PF en Albión a 143.30 mg/100 g PF en Festival. Los valores son similares a los reportados por Kader (1991) de 26 a 120 mg/ 100 g PF en fresa estadounidense. Los fenoles totales varían de 32.72 mg EAG/100 g PF en Festival a 358.02 mg EAG/100 g PF en Celin. Valores similares a los reportados en la literatura. González-Urías (2012) reporta valores de fenoles totales de 185.09 a 248.66 mg/ 100 g PF en fresa mexicana. El contenido de flavonoides varía de 2.06 mg EQU/100 g PF en Dorado a 4.25 mg EQU/100 g PF en San Andreas. Los flavonoides concuerdan con aquellos reportados por Cordenunsi et al. (2002) de 2.20 a 5.71 mg EQU/100 g PF en fresa brasileña y Mahmood et al. (2012) 1.4 a 11.12 mg EQU/100 g PF en fresa pakistaní. El contenido de antocianinas varía de 0.33 mg EC/100 g PF en Dorado a 30.33 mg EC/100 g PF en Camino Real. Los valores de antocianinas son similares a los reportados por Cordenunsi et al (2002) de 13.4 a 54.9 en fresa brasileña. En ABTS, la actividad antioxidante varía de 345.11 a 1371.60 µM ET/100 g PF siendo la variedad Dorado la de menor actividad antioxidante y la Festival la de mayor actividad antioxidante. En DPPH, la actividad antioxidante varía de 407.20 a 1729.57 µM ET/100 g PF siendo Festival la de menor actividad antioxidante y Spartan la de mayor actividad antioxidante. Los valores obtenidos mediante el método ABTS coinciden con los reportados por Domínguez-Morales (2012) de 370 a 960 µM ET/100 g PF en fresa española y por Tulipani et al. (2008) de 1127 a 1941 µM ET/100 g PF en fresa italiana. Los valores obtenidos mediante el método DPPH son similares a los reportados por Vasco et al. (2008) de 1100 µM ET/100 g PF en fresa ecuatoriana, Yildiz et al. (2014) de 794 a 1138 en fresa turca y Dragovic-Uzelac et al. (2007) de 829 a 1115 en fresa croata. La variabilidad de los valores obtenidos se debe a la composición de las variedades de fresa y estado de madurez. Existen otros factores que impactan en la composición de la fresa como factores genéticos, ambientales (temperatura, humedad, intensidad de la luz) y prácticas de cultivo (tipo de suelo, nutrimentos, aporte de agua y uso de pesticidas) (Kader et al., 1991) (Cuadro 2).

Cuadro 2 Compuestos bioactivos de las variedades de fresa analizadas

Variedad	Ác. ascórbico (mg/100 g PF)	Fenoles totales (mg EAG/100 g PF)	Flavonoides (mg EQU/100 g PF)	Antocianinas (EC/ 100 g PF)	ABTS (µM ET/100 g PF)	DPPH (µM ET/100 g PF)
Albión	15.80-37.47	117.90-204.32	2.41-3.24	5.45-24.77	933.58-1231.24	596.47-828.30
Osceola	95.17-113.12	119.14-40.10	2.10-3.40	5.95-16.75	1085.54-1497.60	629.30-1057.89
Fortuna	57.63-71.77	46.30-132.10	2.32-3.28	16.69-18.70	952.38-1366.00	536.10-719.10
Festival	114.94-143.30	32.72-285.19	2.35-5.56	0.61-27.10	407.20-1431.80	484.71-1371.60
Celin	37.76-54.47	156.17-358.02	2.52-3.71	3.45-29.39	651.59-1350.30	707.00-1234.10
Camino Real	96.88-128.31	103.09-172.84	3.17-4.00	3.17-30.33	897.55-1201.47	392.66-736.75
Dorado	42.44-67.18	101.23-175.93	2.06-2.53	0.33-17.47	700.15-883.40	345.11-529.30
Spartan	34.04-56.67	201.23-313.58	2.80-4.17	1.50-15.30	1192.90-1729.57	600.45-1046.30
Dulce Ana	65.08-89.70	129.01-201.85	3.19-3.73	6.23-16.30	1272.08-1593.94	599.13-969.40
San Andreas	103.38-127.54	107.41-151.85	3.44-4.25	14.30-24.15	1256.46-1639.55	631.00-989.20

PF: Peso fresco. EAG: Equ. de Ác. Gálico. EQU: Equ. de Quercetina. EC: Equ. de cianidina-3-glucósido. ET: Equ. de Trolox

Desarrollo del modelo quimiométrico cuantitativo (QUANT+)

El algoritmo PLS1 desarrolló el mejor modelo predictivo al obtener valores de R² más altos (0.9999 en todos los casos) y valores de SEC (0-0.131) y SEP (0-0.168) más bajos en comparación con los modelos desarrollados con los otros dos algoritmos PLS2 (R²: 0.635-0.897, SEC: 0.049-315.7 y SEP: 0.054-670) y PCR (R²: 0.108-0.971, SEC: 0.039-207.5 y SEP: 0.051-516.6). Con base en lo anterior, el algoritmo PLS1 presentó una capacidad predictiva adecuada ya que de acuerdo con Shenk & Westerhouse (1996), R² mayor a 0.90 indica una "precisión excelente". Por otra parte, el SEC y SEP son parámetros que evalúan la precisión con la que las muestras de calibración y predicción se ajustan a la regresión por lo que valores menores, como los obtenidos para PLS1, corresponden a un mejor ajuste en los datos (Hernández, 2014).

En cuanto a la validación (Cuadro 3) los valores reales son cercanos a los valores predichos por el modelo. Además, la distancia de Mahalanobis es < 1 y la relación de residuales < 3 en todos los casos lo que indica que el modelo de calibración realizó una buena predicción.

Cuadro 3. Datos de predicción de las muestras de validación externa del modelo quimiométrico desarrollado con el algoritmo PLS1

Muestra de validación	Parámetro	Unidades	Valor real	Valores calculados quimiométricamente			
				Valor predicho	Distancia de Mahalanobis ^a	Relación de residuales ^b	
ALB3	Sólidos solubles totales	%	8.60	8.66	0.25	1.48	
	Acidez total	%	0.90	0.89	0.24	1.37	
	Azúcares reductores	%	2.22	2.21	0.28	1.50	
	pH	-	3.31	3.32	0.22	1.50	
	Ácido ascórbico	mg/100 g PF	25.34	27.01	0.27	1.47	
	Comp. fenólicos totales	mg EAG/100 g PF	143.21	140.10	0.36	1.48	
	Antocianinas	EC/ 100 g PF	24.77	23.55	0.25	1.53	
	Flavonoides	mg EQ/100 g PF	3.87	3.84	0.30	1.42	
	CA- ABTS	µmol ET/100 g PF	1134.11	1172.00	0.30	1.57	
	CA-DPPH	µmol ET/100 g PF	828.30	823.20	0.27	1.78	
	Sólidos solubles totales	%	7.13	7.20	0.29	1.50	
	Acidez total	%	0.92	0.94	0.21	1.62	
	Azúcares reductores	%	2.10	2.00	0.31	1.48	
	pH	-	3.26	3.31	0.27	1.52	
CAR2	Ácido ascórbico	mg/100 g PF	123.34	120.30	0.31	1.54	
	Comp. fenólicos totales	mg EAG/100 g PF	114.20	114.47	0.31	1.61	
	Antocianinas	EC/ 100 g PF	3.17	3.32	0.27	1.59	
	Flavonoides	mg EQ/100 g PF	3.25	3.47	0.35	1.44	
	CA- ABTS	µmol ET/100 g PF	949.25	940.15	0.26	1.74	
	CA-DPPH	µmol ET/100 g PF	608.71	606.99	0.25	1.79	
	Sólidos solubles totales	%	8.96	9.02	0.15	1.33	
	Acidez total	%	0.63	0.69	0.23	1.18	
	Azúcares reductores	%	2.40	2.23	0.08	1.46	
	pH	-	3.66	3.59	0.13	1.44	
	Ácido ascórbico	mg/100 g PF	38.82	38.14	0.11	1.46	
	Comp. fenólicos totales	mg EAG/100 g PF	117.16	116.80	0.15	1.41	
	Antocianinas	EC/ 100 g PF	14.02	13.77	0.14	1.43	
	Flavonoides	mg EQ/100 g PF	2.52	2.38	0.13	1.37	
CEL4	CA- ABTS	µmol ET/100 g PF	791.00	786.87	0.13	1.67	
	CA-DPPH	µmol ET/100 g PF	707.00	711.59	0.14	1.66	
	Sólidos solubles totales	%	7.26	7.83	0.29	1.58	
	Acidez total	%	0.85	0.88	0.32	1.51	
	Azúcares reductores	%	2.09	1.99	0.31	1.55	
	pH	-	3.41	3.38	0.31	1.54	
	Ácido ascórbico	mg/100 g PF	65.08	65.43	0.26	1.65	
	Comp. fenólicos totales	mg EAG/100 g PF	129.01	128.88	0.26	1.74	
	Antocianinas	EC/ 100 g PF	12.69	11.83	0.24	1.75	
	Flavonoides	mg EQ/100 g PF	3.20	3.75	0.28	1.63	
	CA-ABTS	µmol ET/100 g PF	1272.08	1269.08	0.26	1.78	
	CA-DPPH	µmol ET/100 g PF	969.40	972.90	0.26	1.83	
	DAN4						

Desarrollo del modelo quimiométrico cualitativo (SIMCA)

El modelo SIMCA separó las clases en grupos bien definidos, por tanto no se presentan muestras extremas ni traslapadas por lo que este modelo es capaz de identificar las 10 variedades de fresa analizadas (Figura 1). Aunado a lo anterior, la distancia interclase fue mayor a 3 en todos los casos lo que indica que las poblaciones tienen características espectrales diferentes. Por otro lado, el modelo presentó 100% de reconocimiento y rechazo lo que confirma que el modelo separó las poblaciones en grupos bien definidos diferenciando las 10 variedades de fresa analizadas (Albi3n, Camino Real, Celin, Dorado, Dulce Ana, Festival, Fortuna, Osceola, San Andreas y Spartan).

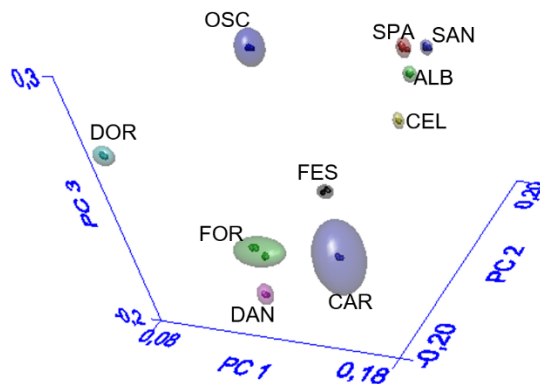


Figura 1 Distribuci3n espacial de las poblaciones obtenidas con el modelo SIMCA.

En el Cuadro 4 se presentan los resultados de la validaci3n del modelo SIMCA. El material especificado e identificado coincide en todos los casos por lo que las 10 muestras de validaci3n fueron identificadas por el modelo SIMCA. Asimismo, se cumple con todos los parámetros estadísticos, lo que indica que el modelo tiene excelente capacidad predictiva. Con base en lo anterior, el modelo SIMCA desarrollado es útil y confiable para identificar correctamente las 10 variedades de fresa (Albi3n, Camino Real, Celin, Dorado, Dulce Ana, Festival, Fortuna, Osceola, San Andreas y Spartan).

Cuadro 4 Resultados de las muestras de validaci3n del modelo SIMCA

Muestra	Material especificado ^a	Material identificado ^b	Resultado ^c	Distancia total ^d	Distancia límite ^e	Distancia del modelo ^f	Distancia residual ^g
ALB2	Albi3n	Albi3n	Identificada	0.52	1.0	0.0	1.63
CAR4	Camino Real	Camino Real	Identificada	0.07	1.0	0.0	0.75
CEL3	Celin	Celin	Identificada	0.17	1.0	0.0	0.55
DAN5	Dulce Ana	Dulce Ana	Identificada	0.21	1.0	0.0	0.65
DOR1	Dorado	Dorado	Identificada	0.37	1.0	0.0	0.75
FES0	Festival	Festival	Identificada	0.23	1.0	0.0	0.73
FOR5	Fortuna	Fortuna	Identificada	0.16	1.0	0.0	0.34
OSC3	Osceola	Osceola	Identificada	0.24	1.0	0.0	0.57
SAN4	San Andreas	San Andreas	Identificada	0.54	1.0	0.0	1.27
SPA5	Spartan	Spartan	Identificada	0.85	1.0	0.0	1.73

^a Material especificado. Material indicado durante la validaci3n (fresa de 10 variedades distintas).

^b Material identificado durante la validaci3n.

^c Resultado. Indica si la muestra fue identificada o rechazada (no pertenece al modelo).

^d Distancia total. Indica si la muestra ha sido correctamente clasificada. Debe ser menor a 1.

^e Distancia límite. Indica que el espectro validado pertenece a la poblaci3n especificada. Deber igual a 1.

^f Distancia del modelo. Es la diferencia de la distancia del espectro validado con respecto a la distancia de los espectros del modelo. Debe ser igual a 0.

^g Distancia residual. Distancia residual grande indica que la muestra contiene una fuente de variaci3n que no se ha encontrado previamente. Debe ser menor a 3.

Aplicaci3n de los modelos

Una vez validados los modelos se realiz3 la aplicaci3n de los mismos con 5 muestras externas. La capacidad predictiva del modelo cuantitativo (QUANT+) desarrollado con el algoritmo PLS1 se evalu3 mediante los criterios estadísticos de distancia de Mahalanobis (< 1) y relaci3n de residuales (< 3). Se cumplen

los parámetros estadísticos mencionados por lo que los valores predichos pueden considerarse aceptables. Debido a lo anterior, el modelo quimiométrico desarrollado con PLS1 puede utilizarse para predecir parámetros de calidad, compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en fresa de forma rápida, eficiente y amigable con el medio ambiente.

Por otro lado, para aplicar el modelo SIMCA, las muestras utilizadas se evaluaron mediante los criterios estadísticos: muestra, material especificado, material identificado, resultado, distancia total, distancia límite, distancia del modelo y distancia residual. Los criterios estadísticos mencionados no se cumplen en algunos casos, lo que indica que el modelo no identifica 2 de las 3 muestras de fresa utilizadas en la aplicación y por lo tanto, éstas no pertenecen a ninguna de las 10 variedades de fresa analizadas (Albión, Camino Real, Celin, Dorado, Dulce Ana, Festival, Fortuna, Osceola, San Andreas y Spartan) o se trata de una mezcla de variedades de fresa.

Los criterios estadísticos mencionados anteriormente, se cumplen en 3 de las 5 muestras, lo que indica que el modelo identifica 3 variedades de fresa analizadas (Albión, Festival y Osceola). Con lo anterior se puede concluir que el modelo SIMCA desarrollado es capaz de identificar estas tres variedades.

CONCLUSIONES

Los modelos quimiométricos desarrollados permiten predecir parámetros de calidad y compuestos bioactivos de forma simultánea sin realizar largos procedimientos de preparación en la muestra y análisis químicos que consumen reactivos y disolventes.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer a la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional (IPN) y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo otorgado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aaby, K., Ekeberg, D., & Skrede, G. (2007). Characterization of phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa*) fruits by different HPLC detectors and contribution of Individual compounds to total antioxidant capacity. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55, 4395–4406.
2. Alcántara-González, M. (2009). Estimación de los daños físicos y evaluación de la calidad de la fresa durante el manejo poscosecha y el transporte simulado. Universidad Politécnica de Valencia, España. Tesis de doctorado.
3. Bazzano, L. (2004). Dietary intake of fruit and vegetables and risk of diabetes mellitus and cardiovascular diseases In background paper of the joint FAO/WHO workshop on Fruit and Vegetables for health. Kobe, Japan: World Health Organization.
4. Brand-Williams, W., Cuvelier, M., & Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 22, 25-30.
5. Cordenunsi, B., Oliveira Do Nascimento, J., Genovese, M., & Lajolo, F. (2002). Influence of cultivar on quality parameters and chemical composition of strawberry fruits grown in Brazil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2581-2586.
6. Domínguez-Morales, P. (2012). Evaluación agronómica de selecciones avanzadas del Programa Nacional de Mejora Genética de *Fragaria x ananassa* Duch., en diferentes sistemas de cultivo y valoración de parámetros de calidad del fruto. Universidad de Córdoba, España. Tesis de doctorado.
7. Dragovic-Uzelac, V., Levaj, B., Bursac, D., Pedisic, S., Radojic, I., & Bisko, A. (2007). Total phenolics and antioxidant capacity assays of selected fruits. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 72(4), 279-284.
8. Espín, J., & Tomas-Barberan, F. (2001). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of fruits and vegetables quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 853–876.

9. González-Urías, M. (2012). *Bacillus Subtilis* como promotora de rendimiento y calidad de fresa. Instituto Politécnico Nacional, México. Tesis de maestría.
10. Guisti, M., & Wrolstad, R. (2001). *Anthocyanins characterization and measurement Analytical Chemistry*. (1 ed.). New York: John Wiley & sons.
11. Hernández, M. (2014). Predicción del deterioro, composición química y perfil de ácidos grasos en filetes de pescado mediante espectroscopia FTIR-ATR y quimiometría. Instituto Politécnico Nacional, México. Tesis de doctorado.
12. Kader, A. (1991). *Quality and its maintenance in relation to the postharvest physiology of strawberry*. PortraInd, Oregon: Timber Press.
13. Kafkas, E., Kosar, M., Paydas, S., Kafkas, S., & Baser, K. (2007). Quality characteristics of strawberry genotypes at different maturation stages. *Food Chemistry*, 1229-1236.
14. Mahmood, T., Anwar, F., Abbas, M., & Saari, N. (2012). Effect of maturity on phenolics (Phenolic Acids and Flavonoids) profile of strawberry cultivars and mulberry species from Pakistan. *International Journal of Molecular Sciences*, 13, 4591-4607.
15. McGlone, V., Fraser, D., Jordan, R., & Künnemeyer, R. (2003). Internal quality assessment of mandarin fruit by vis/NIR spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 11, 323-332.
16. Miller, G. (1959). Use of dinitrosalicylic reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*, 31(3), 426-428.
17. Moura, R., Elesbao, A., Sousa de Brito, E., Maia de Moraes, S., Goes, S., Pérez-Jiménez, J., & Saura-Calixto, F. (2007). Metodología científica: Determinação da Actividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS+. ISSN 1679-6535.
18. Norma Oficial Mexicana. NMX-FF-010-1982. Productos alimenticios no industrializados para uso humano. Fruta fresca. SCA. Determinación de acidez titulable método potenciométrico. Acceso: 16 de Marzo de 2016. <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-FF-010-1982.PDF>
19. Norma Oficial Mexicana. NMX-FF-015-1982. Productos alimenticios no industrializados, para uso humano. Fruta fresca. Determinación de sólidos solubles totales. Acceso: 5 de agosto de 2015. <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-015-1982.PDF>
20. Norma Oficial Mexicana. NMX-FF-062-SCFI-2002. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano- fruta fresca- Fresa (*Fragaria x ananassa*, Dutch) – Especificaciones y método de prueba. (2002). SAGARPA.
21. Ranganna, S. (1986). *Handbook of Analysis and Quality Control for Fruit and Vegetable Products* (2nd ed.). India: Tata McGraw Hill Publishing Company Ltd.
22. Shenk, J., & Westerhaus, M. (1996). The future waves, in: *Near Infrared Spectroscopy*, Ed. By A.M.C. Davies and P.C. Williams. Chichester, UK,: NIR Publications. 198 pp.
23. Singleton, V., & Rossi, J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.

24. Tulipani, S., Mezzetti, B., Capocasa, F., Bompadre, S., Beekwilder, J., Ric De Vos, C., Battino, M. (2008). Antioxidants, phenolic compounds, and nutritional quality of different strawberry genotypes. *Agricultural and Food Chemistry*, 56, 696-704.
25. Vasco, C., Ruales, J., & Kamal-Eldin, A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, 111, 816-823.
26. Voca, S., Dobricevic, N., Dragovic-Uzelac, V., Duralija, B., Druzic, J., Cmelik, Z., & Skendrovic-Babojelic, M. (2008). Fruit quality of new early ripening strawberry cultivars in Croatia. *Food Technology and Biotechnology*, 46(3), 292-298.
27. Yildiz, H., Ercisli, S., Hegedus, A., Akbulut, M., Topdas, E., & Aliman, J. (2014). Bioactive content and antioxidant characteristics of wild (*Fragaria vesca* L.) and cultivated strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) fruits from Turkey. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 87, 274-278.
28. Zheng, Y., Wang, S. Y., Wang, C. Y., & Zheng, W. (2007). Changes in strawberry phenolics, anthocyanins, and antioxidant capacity in response to high oxygen treatments. *Food Science and Technology*, 40, 49-57.
29. Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555-559.

BÚSQUEDA DE LOS SISTEMAS NgBe_2E_2 y $\text{Ng}_2\text{Be}_2\text{E}_2$ ($\text{Ng} = \text{He, Ne, Ar, Kr, Xe y Rn}$; $\text{E} = \text{S, Se, Te y Po}$).

Ilse Martinez Lopez, Patricia Goytortúa Garcia¹, Isis Rodríguez Sánchez, Erick Cerpa Calixto

Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería Campus Guanajuato, Instituto Politécnico Nacional, C.P. 36275, Silao de la Victoria, Guanajuato; México

RESUMEN

A mediados del siglo XX se comenzó con el estudio relacionado a enlaces con gases nobles (Ng) desde que Neil Bartlett^a sintetizó el compuesto XePtF_6 . En la actualidad, un gran número de compuestos de gases nobles que contienen átomos de Ar, Kr, Xe y Rn se reportan. En 2016, Wenjie Yu³ y su equipo, sintetizaron NgBeSO_2 , se realizaron estudios mediante espectroscopia infrarroja y cálculos teóricos que demuestran que los enlaces Ng-Be en NgBeSO_2 tienen naturaleza covalente. Para continuar con las investigaciones, en este trabajo se efectúa la búsqueda con átomos del grupo 16 ($\text{E} = \text{S, Se, Te y Po}$).

INTRODUCCIÓN

En 1962 Bartlett^a, rompió con el paradigma de que los gases nobles (Ng) no pueden formar compuestos estables al sintetizar el compuesto XePtF_6 . Hoy en día, un gran número de compuestos de gases nobles que contiene átomos de Ar, Kr, Xe y Rn son conocidos. En 2015 Frenking^b y colaboradores publicaron un estudio experimental y teórico de los sistemas NgBeCO_3 . Recientemente Merino^f y Chattaraj^e realizaron un estudio comparativo entre los sistemas: NgBeO , NgBeCO_3 y NgBeSO_4 encontrando que las energías de interacción Ng-Be en las tres especies son similares con excepción de HeBeO . En 2010, Kobayashi^f reporta los sistemas NgBe_2O_2 y $\text{Ng}_2\text{Be}_2\text{O}_2$. Para continuar con las investigaciones, en este trabajo se efectúa la búsqueda con átomos del grupo 16 ($\text{E} = \text{S, Se, Te y Po}$).

PARTE EXPERIMENTAL

La estabilidad de las moléculas se analizó por medio de la energía de disociación de enlace, entalpías de disociación y cambios de energía libre de Gibbs, de los fragmentos $\text{Ng}'\text{s}$ y Be_2E_2 . El estudio de naturaleza de enlace Be-Ng se realizó por medio de Análisis de la descomposición de la energía (EDA). El enfoque en el análisis de la union es la energía de interacción instantánea del enlace, que es la diferencia de energía entre la molécula y los fragmentos en el estado de referencia electrónico y la geometría inmóvil del compuesto. La energía de interacción se puede dividir en cuatro componentes principales:

RESULTADOS

Las geometrías encontradas para NgBe_2E_2 y $\text{Ng}_2\text{Be}_2\text{E}_2$ en contraste con los sistemas que se han tomado en comparación, (NgBe_2O_2 y $\text{Ng}_2\text{Be}_2\text{O}_2$) presentan distancias mayores que las de los sistemas ya reportados. Lo anterior no afecta en la formación de los complejos, ya que a pesar de que son distancias mayores, implicaría una fuerza de dispersión menor, no es determinante para la formación.

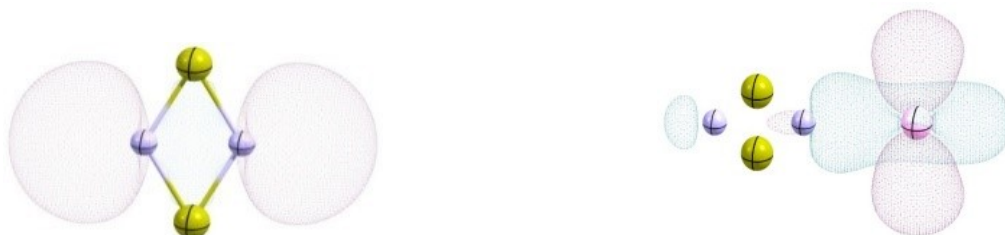


Figura 1. Orbitales LUMO de los sistemas Be_2E_2 y NgBe_2E_2 .

En el Sistema NgBe_2Se_2 se aprecian los orbitales del átomo de Berilio el cual, al unirse al gas noble claramente refleja la falta de disponibilidad del orbital del otro átomo de berilio.

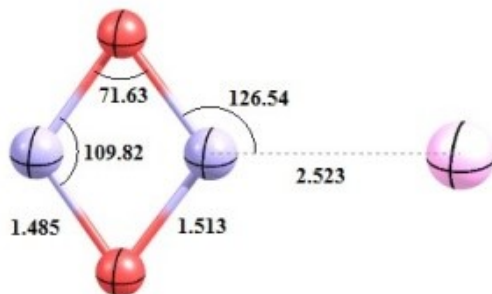


Figura 2. Sistema NgBe_2Se_2 , la distancia entre el gas noble y el berilio al cual se une, va creciendo debido a la fuerza con que los núcleos de esos átomos van reteniendo los electrones externos.

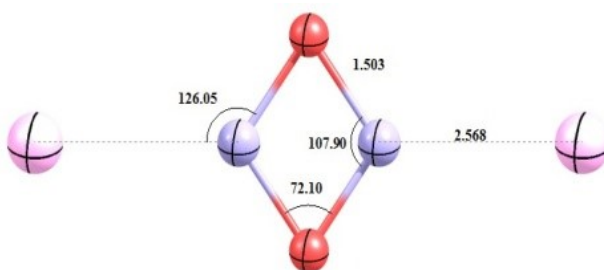


Figura 3. Sistema $\text{Ng}_2\text{Be}_2\text{Se}_2$. Se observa un aumento en la distancia entre los átomos de Ng y Be como consecuencia de la poca factibilidad para la formación de la molécula.



Figura 5. Diagramas del contorno del Laplaciano de la densidad electrónica donde se aprecia un máximo de densidad electrónica en los núcleos de los átomos, además del punto crítico de enlace destacados en color azul.

Tabla 1. Análisis de la descomposición de la energía (EDA) de $\text{Be}_2\text{E}_2\text{XeNg}$ al nivel BP86-D3/Def2-TZVP. Valores en Kcal/mol.

	Be_2O_2	Be_2S_2	Be_2Se_2	Be_2Te_2	Be_2Po_2
--	-------------------------	-------------------------	--------------------------	--------------------------	--------------------------

ΔE_{int}	-7.73	-7.81	-7.67	-7.07	-6.56
	-8.2	-8.9	-8.8	-8.5	-8.3
ΔE_{Disp}	-1.28	-1.85	-2.32	-2.87	-3.17
ΔE_{Pauli}	16.67	24.76	28.40	32.42	34.57
ΔV_{elstat}	-5.45	-	-12.18	-15.00	-16.57
		10.02			
$\Delta E_{\text{Orbital}}$	-	-	-21.56	-21.62	-21.39
	17.67	20.71			
A1	-	-	-17.76	-17.78	-17.50
	14.91	17.23			
A2	-0.04	-0.06	-0.09	-0.09	-0.11
B1	-1.42	-1.71	-1.75	-1.73	-1.73
B2	-1.31	-1.71	-1.96	-2.01	-2.05

Tabla 2. Análisis de la descomposición de la energía (EDA) de $\text{Be}_2\text{E}_2\text{Ng}_2$ C2v D2h al nivel BP86-D3/Def2-TZVP. Valores en Kcal/mol.

	Be_2O_2	Be_2S_2	Be_2Se_2	Be_2Te_2	Be_2Po_2
ΔE_{int}	-5.98	-5.36	-5.13	-4.53	-4.13
	-1.30	-1.85	-2.30	-2.82	-3.14
ΔE_{Pauli}	16.65	24.07	26.80	29.74	30.95
ΔV_{elstat}	-6.28	-	-12.32	-14.52	-15.59
		10.65			
$\Delta E_{\text{Orbital}}$	-	-	-17.31	-16.93	-16.35
	15.04	16.94			
A1	-	-	-14.45	-14.13	-13.59
	12.79	14.26			
A2	-0.04	-0.05	-0.08	-0.07	-0.09
B1	-1.13	-1.28	-1.29	-1.50	-1.19
B2	-1.07	-1.34	-1.50	-1.23	-1.49

CONCLUSIONES

Se reporta la búsqueda de nuevas moléculas sobre su superficie de energía potencial, por medio del algoritmo Bilatu. Las estructuras encontradas se reoptimizaron para corroborar que sean mínimos globales. Se determinó la estabilidad de la molécula con un átomo de Ng a partir del análisis de EDA. Además se observa que existe poca disponibilidad por parte del átomo de berilio para la unión de un segundo átomo de Ng.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bartlett, N. Proc. Chem. Soc. 1962, 218.
2. Frenking, G.; Koch, W.; Gauss, J.; Cremer, D. JACS, 1988, 110, 8007-8016.
3. Thompson, C. A.; Andrews, L. JACS, 1994, 116, 423-424.
4. Zhang, Q.; Chen, M.; Zhou, M.; Andrada D.M.; Frenking, G. JCPA, 2015, 119, 2543 – 2552
5. R. Saha, S. Pan, G. Merino, P. K. Chattaraj, JPCA, 2015, 119, 6746;
6. Kobayashi, T.; Seki, K.; Takayanagi, T. Chem. Phys. Lett. 2010, 498, 235–239
7. Cabellos, J.; Ortiz-Chi, F.; Ramírez, A.; Merino, G. Bilatu 1.0, Cinvestav, Mérida, 2013.

EFFECTO DE AGOMELATINA SOBRE EL RECEPTOR 5-HT_{2c} DE CPF EN UN MODELO DE DEPRESIÓN MAYOR EN RATA

Yamil Hernández Urquieta, Evoli López Morán², Eduardo Brambila Colombres, Julio César Morales Medina, Patricia Aguilar Alonso

Departamento de Bioquímica Alimentos, Facultad de Ciencias Químicas BUAP
Posgrado en Ciencias Químicas, Facultad de Ciencias Químicas BUAP
Centro de Investigación en la Reproducción Animal, CINVESTAV-Universidad Autónoma de Tlaxcala

RESUMEN

El Trastorno de Depresión Mayor (TDM) es un desorden mental frecuente que se presenta en la población mundial sin importar edad, sexo, raza o clase social; datos de la OMS revelan que alrededor de 350 millones de personas padecen depresión.

Según la teoría de las monoaminas, en este trastorno, disminuyen las catecolaminas entre las que destacan serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) y dopamina. Existen diferentes fármacos usados como antidepresivos entre ellos los Inhibidores Selectivos de la recaptura de Serotonina, siendo su representante típico fluoxetina aunque se han observado efectos secundarios no deseados. Un nuevo fármaco conocido como agomelatina, antagonista de los receptores 5HT_{2C} y agonista de los receptores melatoninérgicos.

Se ha observado que cuando se administra una dosis del antidepresivo Agomelatina a roedores deprimidos, los niveles de dopamina y noradrenalina se encuentran aumentados, pero los niveles de serotonina no en un periodo de 180 minutos aunque no se sabe que ocurre cuando la administración se vuelve prolongada.

El objetivo de este trabajo retar a Fluoxetina frente a Agomelatina en un modelo de depresión mayor analizando los niveles de serotonina. Los resultados muestran que los niveles de serotonina se encuentran aumentados cuando se comparan con Fluoxetina. Estos resultados correlacionan con la teoría de las monoaminas y la neurotransmisión serotoninérgica.

INTRODUCCIÓN

La depresión es un desorden mental el cuál se ve reflejado en su estado de ánimo triste o una falta de interés pronunciado en las actividades diarias o la capacidad de obtener placer de estas actividades (conocido científicamente como anhedonia). Los síntomas de la depresión se clasifican en varias categorías que se agrupan basándose en sus similitudes para su diagnóstico, es necesario diferenciar el tipo de depresión de 3 diferentes tipos: Desorden de Depresión Mayor (DDM), Trastorno Distímico, el cual se sugiere que es de tipo genético y el Trastorno Depresivo no especificado [DSM-IV-TR, 2002].

El Trastorno de Depresión Mayor (TDM) o Desorden de Depresión Mayor (DDM) es una enfermedad que afecta al organismo principalmente al cerebro, se ve reflejado en el estado de ánimo, en la manera de pensar y actuar, tanto que se ha documentado como causa común de suicidio [Hirschfeld and Robert, 2012]. Para su diagnóstico clínico se deben presentar 5 o más síntomas que se califican en leves, moderados o severos, en un período de al menos dos semanas en las que el individuo presenta anhedonia (incapacidad para experimentar placer), disturbios de sueño y apetito, sentimientos de infravaloración, fatiga, ideas suicidas y sentimientos de culpa o inutilidad. El episodio depresivo mayor se agrava produciendo el TDM; la característica esencial de éste trastorno es un curso clínico caracterizado por uno o más episodios depresivos mayores y es necesario que curse con uno de los dos síntomas que son tristeza y pérdida de interés o placer [DSM-IV-TR, 2002].

Uno de los factores de riesgo para desarrollar depresión es el estrés oxidativo el cuál al ser constante presenta daño y disfunción neuronal [Xu et al., 2016]. Al haber daño neuronal se observa una conectividad deficiente debido a la baja liberación de neurotransmisores [Bremner et al., 2001].

Según la teoría de las monoaminas se puede notar una disminución de la concentración de serotonina como la causa primordial del trastorno depresivo, sin embargo también se ven afectados los niveles de dopamina y noradrenalina; los cambios en el circuito serotoninérgico que regulan emociones en los individuos desencadenan en un DDM.

Existe evidencia sobre niveles anormales de neurotransmisores monoaminérgicos como serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT), catecolaminas (dopamina y norepinefrina), que actúan en las neuronas del sistema nervioso central y son de gran importancia en la fisiopatología depresiva [Baldwin, 2002].

Los receptores serotoninérgicos Son receptores metabotrópicos (excepto el 5-TH3) que poseen 7 dominios transmembranales, además se clasifican en 7 familias con un total de 16 subtipos agrupados de acuerdo a su mecanismo de señalización inicial [Bockaert y col., 2006]. La familia de los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2C} han sido ampliamente involucrados en el trastorno de depresión mayor, así como el episodio de depresión mayor y está ligada con trastornos de ansiedad y desórdenes depresivos [Albert, 2012].

Los receptores 5HT_{2C} se han encontrado en: hipocampo, amígdala, bulbo olfatorio anterior, núcleo endopiriforme, corteza piriforme, núcleo talámico y sustancia nigra. Aunque preferentemente se encuentra localizado en interneuronas GABAérgicas, los receptores 5HT_{2C} también pueden encontrarse en neuronas dopaminérgicas en la parte mesolímbica del cerebro. Interesantemente los agonistas y antagonistas del receptor 5HT_{2C} han demostrado efectos antidepresivos [Carr, 2011].

Diferentes estudios realizados han encontrado alteraciones en la función y metabolismo de las neuronas en corteza prefrontal (CPF) de pacientes que presentan desórdenes psiquiátricos severos como esquizofrenia y TDM, otros más han encontrado una disminución en el volumen de la CPF e hipocampo en pacientes con depresión [Bremner et al., 2002]. Se sabe que la CPF juega un papel importante en el trastorno de depresión y el comportamiento suicida a través de la regulación en la memoria, conocimiento, reconocimiento de emociones y estados de ánimo como ansiedad. Está área recibe una densa inervación serotoninérgica del núcleo dorsal del raquídeo las cuales tienen su efecto sobre receptores 5HT_{1A}, 5HT_{2A} y 5HT_{2C}, presentes principalmente en neuronas GABAérgicas.

La CPF es un área del cerebro de interés particular ya que aquí se llevan a cabo la toma de decisiones, atención, impulsividad, agresión y la función ejecutiva, además se ha documentado que la neurotransmisión dopaminérgica y serotoninérgica modulando críticas funciones en corteza prefrontal [Robbins and Roberts, 2007]. Estudios neuroanatómicos distinguen en la CPF de la rata tres regiones principales: lateral, orbital y medial (CPF_m); esta última se subdivide, a su vez, en tres zonas (de dorsal a ventral): cingulada anterior (Cg1), prelímbica (PL) e infralímbica (IL).

El tratamiento de DDM requiere de la administración prolongada de fármacos y se toman como primera opción a los antidepresivos tricíclicos con mecanismos serotoninérgicos que ejercen una marcada influencia sobre la actividad de las vías dopaminérgicas y norepinefrínicas que se proyectan en la CPF [Chenu et al., 2013].

Los antidepresivos más utilizados son los Inhibidores Selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS) de los que destaca Fluoxetina. Su mecanismo de acción se basa en el bloqueo de los transportadores de serotonina en las neuronas serotoninérgicas encontradas principalmente en el núcleo Dorsal del Ráquídeo también está asociado en alteraciones corticales de los neurofilamentos y el remodelamiento sináptico [Guest et al., 2004]. Sin embargo, presentan efectos secundarios adversos como hipertensión, disfunción eréctil, cefalea, y el síndrome de discontinuación.

Agomelatina es un antidepresivo análogo de la melatonina que actúa sobre los receptores MT₁/MT₂ y a su vez es antagonista del receptor 5HT_{2C} [Aloyo et al., 2009]; al bloquear a éste receptor se libera dopamina y norepinefrina [Srinivasan, 2012], diversos estudios proponen que la activación de los receptores D₂ tienen como respuesta la posible generación de serotonina en el medio [Chenu et al., 2013]. Vincenzo en el 2001 establece que los antagonistas de los receptores 5-HT_{2C} se encuentran localizados en las interneuronas GABAérgicas bloquean el estímulo de la liberación de GABA cuya función es inhibir la secreción de dopamina.

TEORÍA

El fármaco agomelatina actúa sobre el receptor 5-HT_{2C} de la corteza prefrontal aumentando los niveles de serotonina y dopamina en administración crónica teniendo mejor efecto que el fármaco fluoxetina en el modelo de depresión mayor en rata involucrando al receptor D₂.

PARTE EXPERIMENTAL

Se utilizaron un total de 120 ratas macho de la cepa Wistar de entre 250g-300g

Se asignaron 6 animales a cada uno de los 5 grupos ordenados de la siguiente manera: Sham (cirugía falsa), OBX (bulbectomía), OBX-V (bulbectomía y vehículo), OBX-F (bulbectomía y fluoxetina) y OBX-A (bulbectomía y agomelatina).

La administración de antidepresivos se realizó a partir del día 21 una vez evaluado el modelo y se llevó a cabo por diferentes periodos con administraciones diarias del antidepresivo de 0, 7, 14 y 21 días por vía oral teniendo los grupos: OBX-F, OBX-A y OBX-V.

Una vez obtenidas las cortezas prefrontales de rata se cuantificó serotonina en sobrenadante mediante ELISA. Para observar la diferencia neuronal en las áreas de la corteza prefrontal Cg1, Cg2, M1 y M2 de tres diferentes morfologías celulares Granular, Piramidal y células de la Glía se utilizó la Tinción de Hematoxilina y Eosina.

RESULTADOS

En la corteza prefrontal se observa la disminución celular de neuronas granulares y piramidales en el modelo de depresión mayor y un aumento en la glía (astrocitos y oligodendrocitos).

Se llevó a cabo la cuantificación de serotonina por el método de Elisa en el cuál se observa la concentración del neurotransmisor en CPF en los diferentes periodos en el cuál se administraron los antidepresivos agomelatina y fluoxetina al día inicial día 0 y después por periodos diarios de 7, 14 y 21 días según el grupo.

CONCLUSIONES

En cuanto a la concentración del neurotransmisor serotonina se ve confirmada la hipótesis planteada en el trabajo donde el fármaco de agomelatina tiene un efecto indirecto positivo sobre las concentraciones de serotonina en CPF tras una administración prolongada.

BIBLIOGRAFÍA

1. Albert P.R. (2012). *Transcriptional regulation of the 5-HT_{1A} receptor: implications for mental illness*. Phil. Trans. R. Soc. B 367, 2402–2415.
2. Aloyo V. et al (2009). *Current status of inverse agonism at serotonin 2A (5-HT_{2A}) and 5-HT_{2C} receptors*. Pharmacol. Ther. 121: 160–173.
3. Baldwin D., Birtwistle, J. (2002). *An Atlas of Depression*. The Parthenon Publishing group. Southampton UK.
4. Bockaert J et al, (2006). *Neuronal 5-HT metabotropic receptors: fine-tuning of their structure, signaling, and roles in synaptic modulation*. Cell Tissue Res.; 326(2):553–57.
5. Bremner J.D, Vermetten E. (2001). *Stress and development: behavioral and biological consequences*. Dev Psychopathol.; 13:473–89
6. Bremner, J. D. et al. (2002). *Reduced volume of orbitofrontal cortex in major depression*. Biol. Psychiatry 51, 273–279
7. Carr GV, Lucki I. (2011). *The role of serotonin receptor subtypes in treating depression: a review of animal studies*. Psychopharmacology (Berl): 265–287.
8. Chenu F. et al. (2013). *Electrophysiological Effects of Repeated Administration of Agomelatine on the Dopamine, Norepinephrine, and Serotonin Systems in the Rat Brain*. Neuropsychopharmacology. 38:275–284.
9. Guest et al. (2004). *Mechanisms of action of the antidepressants fluoxetine and the substance P antagonist L-000760735 are associated with altered neurofilaments and synaptic remodeling*. Brain Res. 1002(1-2):1-10.
10. Hirschfeld MD and Robert MA. (2012). *The Epidemiology of Depression and the Evolution of Treatment*. J Clin Psychiatry .73(suppl 1):5-9
11. *Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (2002)*. DSM-IV-TR. Barcelona: Masson.
12. Robbins TW, Roberts A C. (2007). *Differential regulation of fronto-executive function by the monoamines and acetylcholine*. Cerebral Cortex, 17(suppl 1)151-i160.
13. Srinivasan V et al. (2012). *Role of melatonin in mood disorders and the antidepressant effects of agomelatine*. Expert Opin. Investig. Drugs. 21:1503–1522.

14. Xu C et al. (2016). *Orbitofrontal cortex 5-HT_{2A} receptor mediates chronic stress-induced depressive-like behaviors and alterations of spine density and Kalirin7*. *Neurofarmacology*. 211:35-42.

PERFIL DE EXPRESIÓN DEL RECEPTOR ADRENÉRGICO ALFA 1B DURANTE LAS DISTINTAS FASES DE CICLO CELULAR DE CÉLULAS HUMANAS A549

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

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

RESUMEN

La proliferación celular se lleva a cabo de un modo controlado de acuerdo a las necesidades generales del organismo. El ciclo celular es un proceso altamente regulado y en él encontramos diferentes puntos de control; si existiera algún tipo de falla en alguno de estos puntos, nos conduciría a patologías tales como el cáncer. Por tal motivo, el conocer los elementos que regulan los procesos involucrados en la división celular nos permite entender y, en su caso, solucionar patologías relacionadas a problemas de división celular. Los receptores adrenérgicos pertenecen a la familia de receptores acoplados a proteínas G heterotriméricas, los cuales se dividen farmacológicamente en 3 familias (alfa 1, alfa 2 y beta). Anteriormente, estos receptores solamente se habían visto involucrados en procesos de vasoconstricción, pero recientemente se reportó que al estimularlos con una catecolamina se altera la transcripción de varios genes reguladores del ciclo celular de manera diferencial. En el caso particular del receptor adrenérgico alfa 1B (ADRA 1B), se indujo un aumento en la expresión de genes involucrados en la transición del ciclo celular, provocando así una desregulación de éste. Debido a que se sabe poco sobre los mecanismos moleculares por el que distintos subtipos de receptores adrenérgicos alfa1 regulan la proliferación celular, nace el interés de estudiar su expresión, en particular de ADRA 1B con respecto al ciclo celular.

INTRODUCCIÓN

La proliferación celular es un proceso cuidadosamente regulado e irreversible que responde a necesidades específicas del organismo. El ciclo celular consiste en una serie de eventos precisamente coordinados que permiten el crecimiento y la proliferación celular. Para asegurar la correcta progresión a través del ciclo, las células han desarrollado una serie de puntos de control que previenen la entrada en 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. Este tipo de fallas llevan a patologías tales como el cáncer.

Por otro parte, aunque se sabe poco sobre los mecanismos moleculares por el que distintos subtipos de receptores adrenérgicos alfa 1 (ADRA 1) respecto a la regulación del ciclo celular, en el 2004, González-Cabrera y colaboradores encontraron que cuando se estimula a estos receptores 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 de ADRA 1B, el resultado 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. En 2012, Strittmatter y colaboradores mostraron que al estimular a los ADRA 1 con catecolaminas se activa a la proteína Akt.² Aunado a esto, en 2014 Jiménez Alcántar sugiere que el complejo proteico formado por ADRA 1B y eIF3f modulan la degradación de la proteína p27 con la participación de Akt.³ Por todo lo anterior, se genera la necesidad de estudiar la expresión de ADRA 1B con respecto al ciclo celular.

TEORIA

Ciclo celular

EL proceso denominado ciclo celular, describe una secuencia de etapas por las que cronológicamente pasa la célula, hasta que se produce la división física de la célula y se crean dos células hijas. El mecanismo tiene como objetivo asegurar que las células hijas contengan la información específica de la especie e implica los procesos de crecimiento celular, la replicación del ADN y la división celular.⁴

El ciclo celular es la base para la reproducción de los organismos. Su función no es solamente originar nuevas células sino asegurar que el proceso se realice en forma debida y con la regulación adecuada. El ciclo celular consta de dos fases o etapas bien definidas que son: a) la interfase que se divide en tres fases: G1, S y G2; y b) la fase M o Mitosis, fase en la que se reparte a las células hijas el material genético duplicado, a través de la segregación de los cromosomas.

Control del ciclo celular

Hoy sabemos que el ciclo celular está regulado por la fosforilación y la degradación de proteínas que forman complejos. Estos complejos constan de dos subunidades, una reguladora y otra catalítica. La subunidad reguladora se llama ciclina debido a que su concentración varía cíclicamente acompañando los cambios que experimenta la célula durante el ciclo celular. La subunidad catalítica es una cinasa, enzima que cataliza la transferencia de un grupo fosfato del ATP a otra molécula. Esta cinasa se denomina cinasa dependiente de ciclinas (Cdk), ya que sólo actúa cuando está asociada a una ciclina. La fosforilación por parte de complejos Cdk-ciclinas, activa proteínas específicas que a su vez desencadenan procesos clave del ciclo celular.⁵

También dentro de los reguladores del ciclo celular tenemos a los inhibidores de quinasas dependientes de ciclinas (CKIs) que se agrupan en dos familias, en función de su estructura, modo de acción y especificidad de sustrato; la familia de proteínas INK4 y la familia Cip/Kip.^{6, 7} Dentro del ciclo celular existen puntos de control que se definen como los instantes del ciclo celular eucarionte en los que puede detenerse la progresión hasta que las condiciones celulares sean las adecuadas. 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.^{4, 6, 8} 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 al menos tres puntos de control bien definidos. Los dos puntos de control principales se sitúan en la interfase, concretamente en las transiciones de G1 a S y de G2 a M. El tercer punto de control se localiza en plena mitosis.⁶

Receptores de superficie celular

Los mecanismos de comunicación celular son imprescindibles para establecer relaciones adecuadas entre un organismo y su entorno. Para ello se necesita un sistema capaz de generar, transmitir y recibir señales de distinta índole, pero además estas señales han de producir una respuesta en la célula diana de manera que adecue su funcionamiento a las señales que recibe. Por lo general, los sistemas de comunicación se basan en la existencia de receptores capaces de reconocer con una elevada afinidad y especificidad una determinada señal. Por otro lado, estos receptores han de ser capaces de desencadenar una serie de eventos intracelulares como consecuencia de esta señal extracelular. Los mecanismos por los cuales se transforma en el interior de la célula un tipo de señal extracelular (primer mensajero) en otro intracelular (segundo mensajero) se conocen como mecanismos de transducción celular.⁹

Receptores acoplados a proteínas G

Los receptores acoplados a proteínas G (GPCRs) pertenecen a una de las familia más grande de receptores de superficie, implicados en prácticamente todos los procesos fisiológicos del organismo. Los GPCRs son proteínas de membrana capaces de recibir la información proveniente de estímulos externos y de transmitir ésta al interior celular, generando la respuesta adecuada al estímulo recibido.⁸

Los GPCRs comparten una firma estructural común de siete segmentos transmembranales hidrofóbicos, que se extienden por la membrana con un amino terminal extracelular y un terminal carboxilo intracelular. La unión de un ligando al dominio extracelular de estos receptores induce un cambio conformacional que permite que el dominio

citoplasmático del receptor se une a una proteína G asociada con la cara interna de la membrana plasmática. Esta interacción activa la proteína G, que luego se disocia del receptor y lleva la señal a un objetivo intracelular, que puede ser una enzima o un canal iónico.⁸

Receptores adrenérgicos

Los receptores adrenérgicos de adrenalina y noradrenalina pertenecen a la gran familia conocida como receptores acoplados a proteínas G. Se han identificado tres tipos farmacológicos: receptores adrenérgicos alfa 1, alfa 2 y beta. Cada uno de ellos tiene tres subtipos, caracterizados por diferencias tanto estructurales como funcionales. Los receptores alfa 2 y beta están acoplados negativamente y positivamente, respectivamente, a la adenilil ciclasa a través de las proteínas reguladoras G_i o G_s , y los receptores alfa 1 modulan la fosfolipasa C a través de la proteína G_q . Los receptores adrenérgicos median los efectos funcionales de catecolaminas.¹⁰ Cada subtipo muestra mayor preferencia por una clase particular de proteínas G, por ejemplo, los receptores adrenérgicos alfa 1 a G_q , los receptores adrenérgicos alfa 2 a G_i y los receptores adrenérgicos beta a G_s .

Receptores adrenérgicos alfa 1

Los ADRA 1 son receptores adrenérgicos presentes en la membrana plasmática de ciertas células, cuya función principal es la vasoconstricción; juegan un papel importante en la fisiología normal y en muchos estados de enfermedad y la comprensión de sus vías de señalización y los mecanismos de regulación son de importancia considerable, en particular para la identificación de dianas farmacológicas para la modulación terapéutica.¹¹ En humanos, ADRA1A, 1B y 1D están codificados por distintos genes que se encuentran localizados en los cromosomas 8, 5 y 20, respectivamente.¹²

Aunque se sabe poco sobre el mecanismo molecular por el que distintos subtipos de ADRA 1 regulan la proliferación celular, en el 2004, González-Cabrera y colaboradores encontraron en fibroblastos Rat-1, cuyas vías están estimuladas por ADRA 1, que al activar a éstos con epinefrina se altera la transcripción de varios genes reguladores del ciclo celular, entre estos genes se incluyen: 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 Estos productos de los genes son reguladores clave de la progresión del ciclo celular a través de la fase G1, la transición a la fase S, y la progresión a través de la fase G2 antes de la mitosis (M). ADRA 1A y 1D fueron encontrados como inhibidores de genes involucrados en la progresión del ciclo celular y por tanto causaron el detenimiento del ciclo celular en la fase S; en contraste, ADRA 1B causa una desregulación a favor de la progresión del ciclo celular.

Receptor Adrenérgico alfa 1B:

Los ADRA 1B acoplan a las proteínas $G_q/11$, al unirse a sus agonistas, y llevan a la activación de diversas rutas de señalización como lo son la de la fosfolipasa C (PLC) y la estimulación de la hidrólisis de fosfoinosítido (PI), con aumentos en el calcio intracelular libre y la activación de la proteína quinasa C (PKC), siendo éstos algunos de los eventos clásicamente descritos de su función.¹¹ Por otro lado, un estudio reciente mostró que al estimular a los ADRA 1 con los agonistas fenilefrina y noradrenalina se activa a la proteína Akt mediante la fosforilación de su serina 473.²

PARTE EXPERIMENTAL

Para la identificación del perfil de interacción de ADRA 1B con eIF3f, durante el ciclo celular de células humanas, se utiliza 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 propaga en Medio Mínimo Esencial (MEM) y suero fetal bovino (SFB) al 10%. El cultivo se mantiene en este medio con una atmósfera de CO_2 al 5% y a $37^\circ C$, realizando recambio de medio de dos a tres veces por semana y manteniendo la concentración celular en la fase logarítmica de crecimiento.

Sincronización de cultivo

Para el análisis de la expresión del gen ADRA1B, durante tiempo y fases específicas del ciclo celular, se agrega al cultivo un agente sincronizante, se incuba a $37^\circ C$ y 5% de CO_2 y posteriormente se libera el cultivo con 3

lavados de PBS frío. Para sincronizar el mayor porcentaje del cultivo en S se añade 5 µg/mL de afidilcolina durante 36hrs.

Determinación del índice mitótico

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 incuba 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.

Determinación de niveles de expresión de ADRA 1B

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 centrifugan y decantan para posteriormente adicionar solución de lisis ProteoJET, se da vortex y se agita vigorosamente durante 15 min; se centrifuga a 16000g’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 595nm. Se hace la separación de proteína por electroforesis en gel bajo condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE) de acuerdo a métodos convencionales y se detecta la proteína de interés por ensayo de Western blot; para detectar la proteína ADRA 1B se usa un anticuerpo primario de cabra y un anticuerpo secundario cabra contra conejo y conjugado HPR; para normalizar la concentración de carga de utiliza un anticuerpo primario de ratón contra GADPH y un anticuerpo secundario cabra contra ratón conjugado a HPR. Después de revelar la placa fotográfica, ésta se analiza usando utilizando el software Kodak Digital Science ID que relaciona la intensidad de la banda con la concentración de la proteína ADRA 1B.

RESULTADOS

En la determinación del índice mitótico de las células A549 sincronizadas con afidilcolina se pudo observar un aumento (pico) del 20.03% de células en división celular a las 8 h (Fig. 1 y 2).

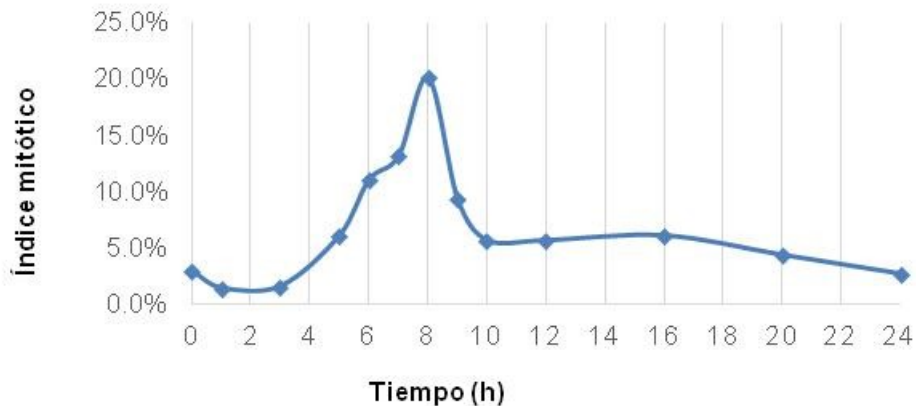


Figura 1. Representación gráfica de la proporción de la población de células A549 en la fase M del ciclo celular.

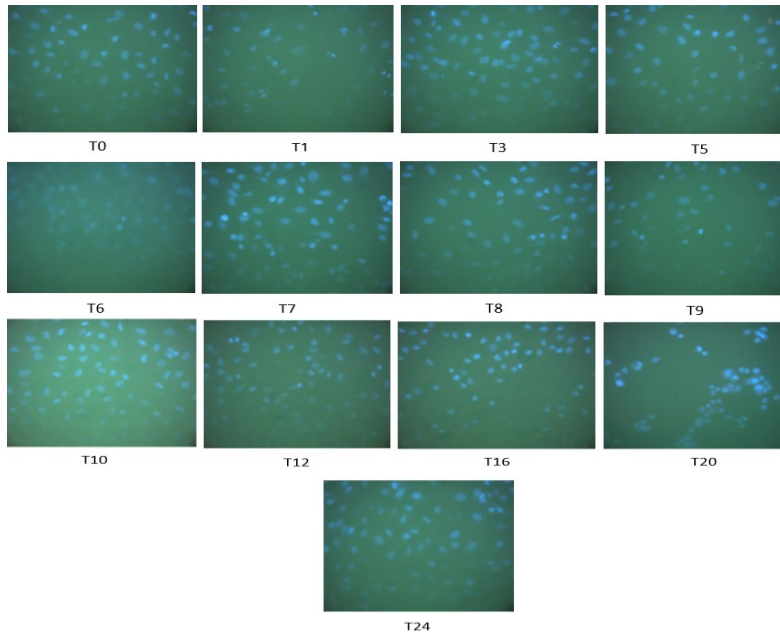


Figura 2. Fotografías de células A549 sincrónicas a distintas horas (Objetivo 40X).

Respecto a la cuantificación de la expresión de ADRA 1B mediante Western blot se pudo apreciar un aumento del 71% entre la muestra asincrónica y la sincrónica del tiempo cero horas, que representa un enriquecimiento de la población en la fase S temprana del ciclo celular (Fig. 3). En las micrografías se aprecia este aumento de la expresión de ADRA 1B en cultivos con células enriquecidas en la fase S, lo cual se verificó a través del análisis por densitometría de las bandas, análisis que se muestra en el gráfico de la misma figura.

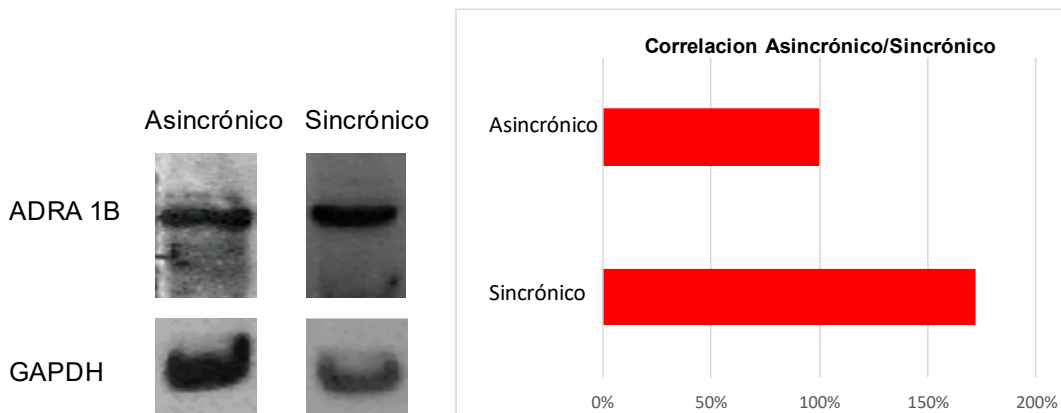


Figura 3. Expresión relativa de ADRA 1B en cultivos A549 sincrónico y asincrónicos.

El análisis de las muestras sincrónicas a distintos tiempos arrojó el perfil de expresión que se muestra en la figura 4. Se puede apreciar que ADRA 1B presenta expresión relacionada a fases del ciclo celular, con aumentos en la transición G2/M y G1/S del ciclo celular.

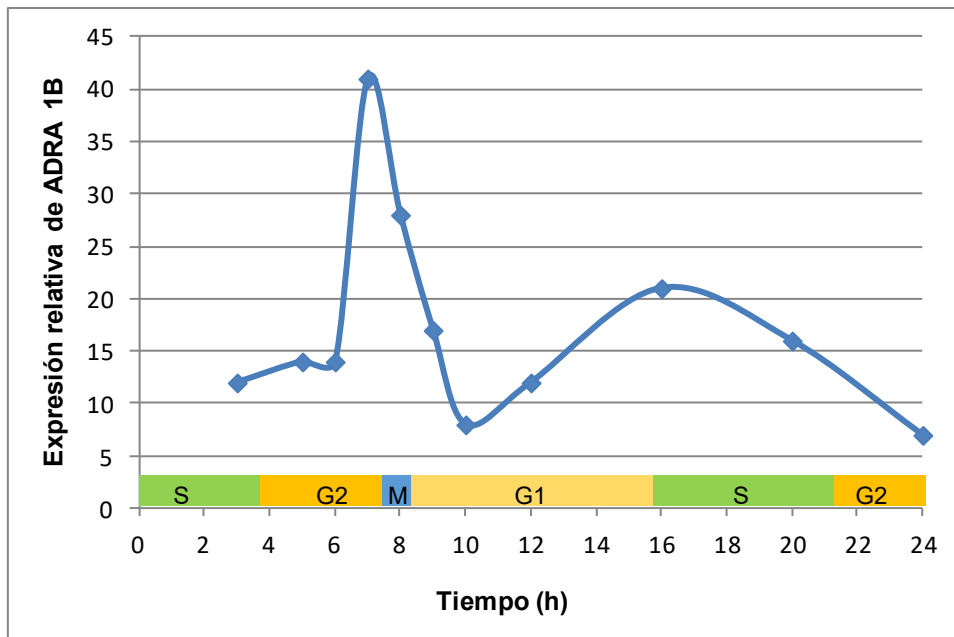


Figura 4. Perfil de expresión relativa de ADRA 1B en cultivo sincrónico de A549. El cultivo fue liberado del agente sincronizante a la hora cero. Se normalizaron las determinaciones de ADRA 1B con su correspondiente control interno de GAPDH.

CONCLUSIONES

En las células en división celular existe un aumento de la expresión relativa de ADRA1B, lo que nos indica que está relacionado al ciclo celular. Asimismo, los resultados preliminares sugieren que ADRA 1B no presenta una expresión constitutiva, sino que fluctúa mostrando mayor expresión en las transiciones de las fases G2M y G1/S del ciclo celular.

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. 5157–516.
2. 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.446-53.
3. 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. Universidad michoacana de San Nicolas de Hidalgo Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas "Dr. Ignacio Chávez". 2013.
4. B. Alberts, D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, & J.D. Watson, *Biología molecular de la célula*. 3ª ed. Barcelona: Omega S.A. 2002, pp.925.
5. Farías-Escalera, E. Beltrán-Peña, & M. A. Pardo-Galván, "Control molecular del ciclo celular eucariótico", *Ciencia Nicolaita.*, Vol. 42, 2005, pp 37-56.
6. Herráez, "Biología Molecular e Ingeniería Genética". 2012, España: Elsevier.
7. R.J. Droni, & Y. Xion, "Signaling Pathways that Control Cell Proliferation". *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, Vol.5, 2013, pp. 1-15.
8. M.G. Cooper, *La célula.*, Capítulo 13, Madrid, España: MARBAN 2007, pp.550-552.

9. C.A. Castillo-Sarmiento, "Mecanismos de regulación de los receptores de adenosina y Metabotrópicos de glutamato en células neuronales y de glía. Implicación en procesos de excitotoxicidad y muerte celular", Ed de la UCLM., 2009. Pp. 3-12.
10. C.D.Strader, T.M. Fong, M.R Tota, D. Underwood, & R.A. Dixon, "Structure and function of G protein-coupled receptors". *Annu Rev Biochem.*, Vol. 63, 1994, pp.101-132.
11. M.L. Toews, S.C. Prinster, & N.A. Schulte, "Regulation of alpha-1B adrenergic receptor localization, trafficking, function, and stability", *Life Sci.*, Vol. 74,23, 2003, pp. 379-89.
12. S. Guimaraes, & D. Moura, "Vascular adrenoceptors an update", *Pharmacol Rev.*, Vol. 53,2, 2001, pp319-56.

USOS TERAPEUTICOS DEL ROMERO (*Rosmarinus officinalis*)

Fraire Quintero Saira Zulema, Alvarado Romero Alma Cristina, García Soriano Jessica, Montellano Palomar Viridiana, Sol María Quirarte Báez, González Curiel Irma Elizabeth, Lazalde Ramos Blanca Patricia

Laboratorio de Etnofarmacología Biomédica, Unidad Académica de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas, México.

Correo: blancalazalde@gmail.com

RESUMEN

El Romero (*Rosmarinus officinalis*) es una planta mediterránea que ha sido cultivada en todo el mundo rica en principios activos utilizada como terapia alternativa en diversas patologías. En México el Romero se utiliza como planta medicinal en los estados de Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, México, Morelos, Oaxaca, Puebla, Sonora, Tlaxcala, y Veracruz.

Objetivo.

Realizar una revisión bibliográfica de los usos farmacológicos de *Rosmarinus officinalis*.

METODOLOGÍA.

Se realizó una búsqueda extensiva en las bases de datos: PubMed, Scielo, Google, Medline, EBSCO y Elsevier, con las palabras claves, Romero, *Rosmarinus officinalis*, usos terapéuticos, hipoglucemiante, hipolipemiante, antioxidante, hepatoprotector, anti-inflamatorio, cáncer, diabetes, obesidad, hipertensión, antitrombótico, anti-esclerótico, antiespasmódico y antidepresivo.

Conclusión.

De acuerdo a la revisión bibliográfica realizada, *Rosmarinus Officinalis* tiene un amplio uso terapéutico en diferentes padecimientos. El mayor número de publicaciones refieren su efecto hipoglucemiante e hipolipemiante, seguido de su efecto antioxidante, hepatoprotector y anti-inflamatorio, por lo cual dicha planta puede ser considerada como terapia alternativa en estos padecimientos.

INTRODUCCIÓN

Las planta medicinales se han utilizados durante muchos siglos para el tratamiento de diferentes padecimientos en casi todos los continentes (Asia, África, Europa y América) ^{Haylari E. et al., 2007; Labban L. et al, 2014}. La medicina herbolaria se basa en que las plantas contienen sustancias naturales que pueden promover la salud y aliviar la enfermedad ^{Wargovich M. et al., 2001; Labban L. et al, 2014}. Sin embargo, existe poca o nula información de los riesgos toxicológicos de los componentes ^{Ali-Shtayet M. et al., 2012}. Anteriormente se ha creído que el nombre "*Rosmarinus*" deriva de los vocablos latinos "ros" (rocío) y "marinus" (mar), que significan "rocío de mar". El Romero pertenece a la familia Lamiaceae (Labiatae), es un arbusto de hasta dos metros de altura, por lo general erguido, con una vida media de entre 5 y 15 años ^{Ávila-Sosa R. et al. 2011}. Los tallos son erectos o procumbentes, pelosos y poseen numerosas glándulas esferoidales. Tradicionalmente, el Romero se ha utilizado en cólico renal como antiespasmódico, para aliviar síntomas de dismenorrea y enfermedades respiratorias, disminución mental, epilepsia, alivio de dolor e infertilidad, entre otras ^{Ulbricht C. et al., 2010; Labban L. et al. 2014}. Así como también en tratamiento para la pérdida de cabello, dispepsia, dermatitis, ansiedad, estreñimiento, dolores musculares y articulares ^{Al-Sereiti M. et al, 1999; Labban L. et al. 2014}.

EFFECTO HIPOGLUCEMIANTE

En estudios preclínicos se ha reportado que la resistencia a la insulina puede ser mitigado por la acción antioxidante del ácido rosmarínico (RA), el cual incrementa la sensibilidad a la insulina ^{Vanithadevi y Anuradha, 2008}. Ibarra y col., 2011 reportaron que el extracto de Romero estandarizando con ácido carnósico (CA) al 20% decremента los niveles de glucosa en sangre en un 72% ^{Ibarra et al., 2011}. También, se ha reportado que los flavonoides presentes en el Romero provocan una inhibición de la dipeptidil peptidasa IV y la proteína tirosina fosfatasa 1B que actúan en la secreción y señalización de la insulina ^{Wang et. al., 2011}. Por otra parte, un estudio reportado por

Alnahdi 2012, investigo que el extracto acuoso de las hojas de Romero, conducen a la regeneración de las células β del páncreas y a la potenciación de la secreción de la insulina a partir de las células β remanentes Alnahdi, 2012.

Se ha demostrado que los dipertenos fenólicos del extracto acuoso del Romero, suprimen la capacidad de respuesta al adenosin monofosfato cíclico (AMPC) de genes glucogénicos Yung Y. et al., 2013. Estudios *in vitro* han reportado que el Romero aumenta potencialmente la glicolisis del hígado y la oxidación de ácidos grasos mediante la activación de AMPc y las vías de los receptores PPAR-Y, cuyos componentes tienen la capacidad de suprimir la respuesta a AMPc del gen fosfoenolpiruvato citosólico carboxinasa (PEPCK-C) y de glucosa 6 fosfatasa (G6pasa), lo que provoca un efecto hipoglucemiante Herzing, et al., 2001; Rau, et al., 2006; Al Jamal, et al., 2011; Tü, et al., 2013.

En un estudio animal, de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) se demostró que el ácido rosmarínico modula las enzimas glicolíticas: hexoquinasa y piruvato cinasa, incrementando la glucolisis, disminuyendo los niveles de glucosa y HbA1c en sangre Jayanthy y Subramanian, 2014. En otro estudio reportaron que el CA del Romero, mejora la acción y secreción de insulina al estimular la captación de la glucosa en las células del músculo esquelético a través del eje de señalización proteica fosfatasa metilesterasa 1/proteína fosfatasa 2A/ proteína quinasa B (PME-1/PP2A/PKB) Lipina C. et al., 2014.

Así mismo, se ha reportado que el ácido betulínico, otro principio activo del Romero, regula la glucemia a través de la señalización de la insulina, mediante la estimulación de la síntesis y translocación de GLUT4 Gomes A. et al., 2014. Un estudio *in vitro* demostró que el Romero en células musculares estimula la captación de glucosa en los miotubos L6 del músculo esquelético de manera dosis dependiente, controlando la homeostasis de glucosa en sangre Naimi M. et al., 2015.

Labban y col, determinaron el efecto de la ingesta de 2, 5 y 10g durante 4 semanas de polvo de hojas de Romero en individuos sanos sobre los niveles de glucosa, reportando un decremento del 11.2% a la dosis de 2g, del 15.74% a la dosis de 5g y del 18.25% a la dosis de 10g Labban L. et al., 2014. Posteriormente, Al Jamal y col., realizaron un estudio en pacientes con DM2 y personas no diabéticas, como grupo control. A todos los participantes les administraron 3g de hojas de Romero/día durante un mes. Los resultados mostraron una disminución de los niveles de glucosa del 9% en los pacientes con DM2 y del 21% en el grupo de individuos sanos Al- Jamal A., 2014.

EFFECTO HIPOLIPEMIANTE

Se ha reportado que el AC del Romero en ratas Zucker, mejora el perfil lipídico Romo-Vaquero et al., 2012. De igual manera, se ha reportado que el extracto metanólico de Romero inhibe DGAT1, regulando el metabolismo de lípidos, siendo un posible tratamiento para la obesidad y DM Cui L. et al., 2012. De igual manera se ha reportado, que los compuestos fenólicos del Romero reducen los niveles plasmáticos de colesterol en ratas con hipercolesterolemia y obesidad Afonso M, et al., 2013. También en ratones obesos inducidos con dieta se les administró por vía oral la fracción de éster de petróleo de Romero (dipertenoides), reportando la disminución de genes SREBP, inhibiendo su actividad y como consecuencia reduciendo los niveles plasmáticos de lípidos y mejorando la sensibilidad a la insulina Zhi X. et al., 2016. Li J. y col. 2016, reportaron dos nuevos principios activos del Romero presentes en las partes aéreas de la planta, nombrados officinoflavonoides A y B. Los investigadores evaluaron *in vitro* estos nuevos compuestos en células HepG2, observaron que estos flavonoides, en comparación con otros 16 flavonoides conocidos inhibían la acumulación de triglicéridos y que el officinoflavonoide A, posee una actividad similar en el metabolismo de los lípidos como el ORLISTAT Li J. et al., 2016. Labban L. y col. 2014, realizaron un estudio en 48 personas sanas, a las cuales se les administró una dosis de 2, 5 y 10g de hojas de Romero en polvo durante 4 semanas, concluyendo que la dosis de 2g decremantan los niveles de colesterol en un 11.48% y los triglicéridos en un 14.97%; a dosis de 5g disminuyen los niveles de colesterol a 17.97%, LDL en un 28.46%, triglicéridos un 21.3%, e incremento los niveles de HDL a 15.21%. La dosis de 10g, mostró un decremento mayor en los niveles de colesterol (34.48%), LDL (34.28%), triglicéridos (29.06%) y un incremento de la concentración de HDL (22.91%) Labban L. et al., 2014. Al- Jamal reportó que la administración de Romero en dosis de 3g/día durante un mes, en pacientes con DM2 con dislipidemias e individuos sanos, disminuye los niveles plasmáticos de lípidos. Al- Jamal A., 2014.

EFECTO ANTIOXIDANTE

Se ha reportado el efecto antioxidante del Romero, la administración oral de dosis de 200 mg/kg de extracto de etanólico de Romero en conejos, redujo los niveles de Malondialdehído (MDA), la superóxido dismutasa sérica (SOD) y la catalasa (CAT) ^{Bakirel et al., 2008}.

Un estudio *in vivo*, demostró que el RA a dosis de 50, 100 y 200mg/kg incrementa la actividad de SOD, catalasa y glutatión peroxidasa y disminuyendo la concentración de MDA, en comparación con el grupo control ^{Zhang Y. et al., 2015}.

De igual manera, se ha reportado que el aceite esencial de Romero disminuye la concentración de radicales libres (RL) en el modelo murino de daño hepático agudo con tetracloruro de carbono (CCl₄) ^{Raskovic A. et al., 2015}.

Olah N. y col. 2016, evaluaron el perfil de polifenoles en planta seca y fresca de Romero mediante una extracción hidroalcohólica. Demostrando que la mayor concentración de polifenoles totales y actividad ^{Olah N. et al., 2016}.

En otro estudio se evaluó el efecto antioxidante del RA timol, CA así como una mezcla de ellos sobre aceite de soja, por 20 días, a 60° C para acelerar la oxidación. Demostrando que cada principio activo por separado mantiene la estabilidad oxidativa del aceite de soja, pero la mezcla ternaria de estos compuestos presentan mayor actividad antioxidante ^{Saoudi S. et al., 2016}. De igual manera se reportó que el extracto hidroalcohólico de Romero contrarresta los radicales producidos en la semillas de trigo por el pesticida dinitrofenol ^{Dimitru G. et al., 2016}.

También se reportó que el extracto acuoso de Romero suprime la acumulación del estrés oxidativo mediante el incremento de la superóxido dismutasa sérica, glutatión peroxidasa y la reducción de la concentración de malonaldehído en ratas con hiperlipidemias ^{Wang F. et al., 2016}.

Labban y col 2014, evaluaron en individuos sanos el efecto de la ingesta de 2, 5 y 10 g de hojas de Romero en polvo durante 4 semanas, sobre la concentración de glutatión reductasa (GR), Vitamina C, β-caroteno y MDA. El Romero disminuyó de forma dosis dependiente la GR y el MDA e incrementó la concentración de vitamina C y β-caroteno ^{Labban L. et al., 2014}.

ANTIESPASMÓDICO

En la medicina popular, las partes aéreas de Romero por vía oral se han utilizado para aliviar los cólicos, como tratamiento en la dismenorrea renal, y como antiespasmódico ^{Al-Sereiti et al., 1999}. De igual manera el extracto etanólico de Romero disminuye el dolor visceral ^{González T. et al., 2007; Minaiyan M. et al., 2008}.

En otro estudio se demostró que el extracto etanólico de Romero bloquea los receptores muscarínicos y canales de Ca²⁺ ^{Ventura R. et al., 2011}.

También se ha demostrado que el Romero disminuye la inflamación intestinal, en modelos murinos inducidos con colitis aguda, a través de MAPKs/NF-kappa B ^{Medichería K. et al., 2016}.

EFECTO HEPATOPROTECTOR

En el 2002, Sotelo-Félix JL y col demostraron que el extracto metanólico de Romero protege contra el daño agudo inducido con CCl₄ en ratas Sprague Dawley, actuando como antioxidante y/o secuestrador de RL, el efecto lo atribuyen al carnosol y CA. El extracto y compuestos puros normalizan el nivel plasmático de bilirrubina, reducen el contenido de malondialdehído presente en el hígado, y disminuyen los niveles de ALT ^{Sotelo-Félix JL et al., 2002}.

De igual manera, se reportó que el extracto metanólico de Romero en el modelo de daño hepático inducido por CCL₄ en rata presenta efecto preventivo y revierte el daño hepático ^{Gutiérrez R. et al., 2010}, así mismo, disminuye la hepatotoxicidad inducida con ciclofosfamida en ratón ^{El-Nagar SA, et al. 2016}.

EFECTO ANTIHIPERTENSIVO

Estudios realizados en el 2002 en pacientes con enfermedad cardiovascular (ECV) demostraron que el Romero en conjunto con una dieta rica en omega-3, lecitina y curcumina disminuyen significativamente la presión arterial, sin producir cambios significativos en la glucosa sanguínea ^{Yam et al., 2002}.

Por otra parte, se demostró que el Romero en combinación con arándanos rojo en una proporción de 25:75 inhiben la actividad de la enzima convertidora de angiotensina (ACE-I) ^{Apostolidis et al., 2006}.

En el 2012 Karthink y col demostraron que la suplementación con RA a una dosis de 10 mg/kg en ratas hipertensas alimentadas con fructosa (modelo de resistencia a la insulina) reduce la presión arterial y previene lesiones cardíacas e hipertrofia ^{Karthik Al. et al., 2011}. De

igual manera se demostró que el Romero disminuye los niveles de glucosa y la actividad enzimática relacionadas con la lesión cardíaca y el perfil hepático corregido ^{Alnahdi 2012}.

EFFECTO ANTITROMBOTICO

Se ha reportado el efecto antitrombotico de los extractos acuoso y acetónico del Romero en modelos de trombina y colágeno, demostraron que los extractos inhiben la glucosilación de LDL-C y la formación de AGE en colágeno. Los ingredientes activos RA, carnosol, CA, ácido 12-metoxicarnosol y el carnosato de metilo también presentan efecto anti radicales y han potenciado la actividad de la antitrombina III, que puede inhibir la coagulación mediante la lisis de trombina y otros factores de coagulación sanguínea ^{Hsieh et al., 2007}. De igual manera, se ha reportado que la administración a largo plazo de Romero tiene efecto antitrombótico, debido a la inhibición de plaquetas y la estimulación de células endoteliales, además, este efecto no se acompaña de prolongación del tiempo de sangrado ^{Yamamoto J., et al., 2005, Naemura A., et al. 2008}. Datos comparativos sugieren que el efecto antitrombótico residiría en el contenido en fenilpropanoides ^{Tognolini M, et al., 2006} y del CA, el cual inhibe la movilización del calcio del citosol ^{Lee JJ, et al., 2007}. En ratones machos bajo dieta occidental alta en grasas se demostró que el Romero inhibe la formación de trombos arteriales, al reducir la reactividad plaquetaria y mejorar la vasodilatación mediada por el flujo ^{Naemura A., et al. 2008}.

EFFECTO ANTIDEPRESIVO

Se ha reportado el efecto antidepresivo del Romero. Kosake y col 2003, reportaron que los extractos de Romero incrementan la producción del factor de crecimiento nervioso (NGF) ^{Kosaka K, et al. 2003}. De igual manera, se demostró que el carnosol en la neurotoxicidad inducida por rotenona de células dopaminérgicas, incrementa significativamente la cantidad de tirosina hidroxilasa ^{Kim SJ, et al., 2006} y que el ácido ursólico presenta efecto antidepresivo probablemente mediante la activación de los receptores dopaminérgicos D1 y D2 ^{Machado DG, et al. 2012}.

También se ha reportado que las partes aéreas del Romero poseen actividad antinociceptiva ^{González-Trujano ME, et al. 2007}. Así mismo, el extracto hidroalcohólico de Romero demostró actividad antidepresiva, in vivo, tras su administración oral en ratones, comparable a la producida por la fluoxetina (10 mg/kg, por vía oral) ^{Machado DG, et al. 2009}. Además, se demostró que el Romero inhibe la acetilcolinesterasa en modelo murino ^{Ozarowski M, et al., 2013}.

Machado DG y col 2013, reportó el efecto antidepresivo de las fracciones del Romero, acetato de etilo 1 y 2 (AcOEt1 y 2), hexano (HEX), etanólico (ET), y fracciones de aceite esencial libre (EOF), así como el aceite esencial y los compuestos aislados carnosol y ácido betulínico mediante el ensayo de suspensión por la cola, sugiriendo que este efecto se puede atribuir, al menos en parte, a la presencia de carnosol y ácido betulínico, así como al 1,8-cineol ^{Machado DG, et al., 2013}.

EFFECTO ANTICANCERIGENO

Varios estudios *in vitro* de cáncer de colon han demostrado que el Romero presenta propiedades anticancerígenas. La exposición de las células de cáncer de colon CaCo-2 a extractos de Romero redujo drásticamente la formación de colonias ^{Slamenova D et al. 2002}. Se evaluó el efecto anti-tumorigénico de varias hierbas culinarias y medicinales en células de cáncer de colon SW480 y encontraron que el Romero reduce significativamente el crecimiento y proliferación celular ^{Ibáñez C et al., 2012, Valdés A et al 2013}.

De igual manera se reportó que el Romero inhibe la viabilidad celular dosis dependiente de las células de cáncer de colon SW620 y DLD-1. Al utilizar 5 extractos diferentes, que contenían niveles crecientes de carnosol (CN: 1% -3,8% ω/ω) y ácido carnósico CA (10% -30% ω/ω). La inhibición de la viabilidad celular se correlacionó con el aumento del contenido de CA. Además, la AC, disminuyó la viabilidad celular y este efecto se potenció mediante la adición de CN. Sin embargo, la inhibición observada utilizando extracto de Romero fue mayor que la respuesta observada con CA o CN sola o en combinación lo que sugiere que los productos químicos distintos de CA y CN presentes en extracto de Romero, también contribuyen a sus efectos contra el cáncer ^{González-Vallinas M. 2014}.

El extracto de Romero también inhibió la viabilidad de las células de cáncer de próstata DU145 y PC3, así como la proliferación y viabilidad de células de cáncer de próstata LNCaP y 22RV1 ^{Petiwala, S.M. et al, 2014}. De igual manera fue evidenciado el efecto protector contra el daño inducido por la radiación UV del Romero en humanos expuestos ^{Pérez-Sánchez A. et al., 2014}.

En base a lo reportado, el extracto de Romero y sus polifenoles CA y RA pueden usarse como sustancias químicas para dirigirse a vías específicas que conducen a la inducción de apoptosis y disminución de la supervivencia celular. ^{Moore J, et al., 2016}

EFFECTO ANTI-OBESIDAD

Varios estudios informan el efecto benéfico del consumo del Romero en la promoción de la pérdida de peso. La principal actividad anti-obesidad reportada para el Romero es que aumenta la excreción de grasa fecal sin disminuir la ingesta de alimentos ^{Harach et al., 2010; Ibarra et al., 2011}. Se ha reportado que la ingesta de la dosis de 200 mg/kg durante 50 días del extracto de hojas de Romero reduce significativamente el peso y masa corporal (64 y 57% respectivamente) en ratones alimentados con una dieta rica en grasas ^{Harach et al., 2010}. De igual manera, la administración del extracto de hoja de Romero estandarizado al 20% con AC (500 mg/kg/día) reduce la grasa ^{Ibarra et al., 2011}

En concordancia, fue reportado un efecto inhibitorio *in vitro* del Romero sobre la lipasa sensible a hormonas y lipasa pancreática ^{Bustanji et al. 2010}. Así como la actividad anti-adipogénica, ya que el CA inhibe la diferenciación de preadipocitos 3T3-L1 ^{Gaya et al. 2013}

Estudios recientes han demostrado que algunos fitoquímicos del Romero regulan la expresión de genes específicos y microRNAs que juegan un papel fundamental en la modulación de la diferenciación de los adipocitos humanos e interfiere significativamente con la adipogénesis y el metabolismo de los lípidos, apoyando su interés como suplemento dietético ^{Gamboa-Gómez C et al. 2015}

EFFECTO ANTI-INFLAMATORIO

Las citoquinas inflamatorias, como el TNF- α , la interleucina 6 (IL-6) y la proteína quimiotáctica monocítica-1 (MCP-1), secretadas por el tejido adiposo, inhiben la expresión de GLUT4, mediando la captación de glucosa en los adipocitos y causando resistencia a la insulina ^{Tsai et al., 2014, Xie et al., 2010}. Los resultados del estudio realizado por Tsai y col 2014 indicaron que CA reduce la inflamación mediada por TNF- α y mejora la resistencia a la insulina en adipocitos 3T3-L1. El mecanismo sugerido es la inhibición de la expresión de ARNm de los genes inflamatorios (IL-6 y MCP-1) y los niveles de proteína de múltiples agentes de la ruta de señalización de proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) (quinasa regulada por señal extracelular [ERK] Y c-Jun NH2-terminal quinasa [JNK]), diana de rapamicina en células de mamífero (mTOR), y el factor de transcripción 1 (FOXO1 se une a PPAR- γ e inhibe su función) ^{Tsai et al., 2014}. Otro compuesto bioactivo del Rosmarinus Officinalis como el ácido ursólico (UA), un ácido triterpenoide carboxílico pentacíclico, presenta actividad antiinflamatoria. Esta propiedad se ha atribuido a su capacidad para suprimir la activación de NF- κ B (factor nuclear kappa B). Ya que NF- κ B, en coordinación con NF-AT (factor nuclear de células T activadas) y AP-1 (activador de la proteína-1), llevan a cabo la regulación de los genes inflamatorios. ^{Checker et al., 2012}

CONCLUSIONES

Los informes establecen que el Romero ejercen efectos hipoglucemiante, hipolipemiante, antioxidante, antiespasmódico, hepatoprotector, antihipertensivo, antitrombótico, antidepresivo, anticancerígeno, anti obesidad y antiinflamatorio. Los efectos se relacionan constantemente con la modulación de enzimas, vías de transducción de señales críticas, factores de transcripción y las expresiones genéticas. A pesar de que existen muchos reportes en animales y ensayos *in vitro*, sólo se han reportado dos estudios clínicos, por lo cual son necesarios más estudios clínicos para confirmar la eficacia y la seguridad de los componentes del Romero en humanos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Afonso MS. De O-Silva AM. Carvalho EB. et al. (2013). "Phenolic compounds from Rosemary (*Rosmarinus officinalis*.L) attenuate oxidative stress and reduce blood cholesterol concentrations in diet-induced hypercholesterolemic rats". Nutr Metab 10:19.

2. Al Jamal A. & Alqadi T. (2011). "Effects of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) on lipid profile of diabetic rats". Jordan Journal of Biological Sciences. 4(4):199-204.
3. Al Jamal A. (2014). "Effects of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) on lipid profiles and blood glucose in human diabetic patients (type-2)". African Journal of Biochemistry Research. 8(8):147-150.
4. Ali- Shtayeh M. Jamous R. Jamous R. (2012). "Complementary and alternative medicine use amongst Palestinian diabetic patients". ELSEVIER Complementary Therapies in Clinical Practice 18:16-21.
5. Alnahdi H.S. (2012). "Effect of *Rosmarinus officinalis* extract on some cardiac enzymes of streptozotocin-induced diabetic rats". J. Health Sci. 2, 33–37.
6. Al-Sereiti MR. Abu Amer KM. (1999). "Farmacología de Romero (*Rosmarinus officinalis* Linn.) Y sus potenciales terapéuticos". Ind J Exp Biol. 37: 124-130.
7. Apostolidis E, Kwon YI, Shetty K (2006). "Potential of cranberry-based herbal synergies for diabetes and hypertension management". Asia Pac J Clin Nutr 15:433–441.
8. Bakirel T. Bakirel U. Keles OU. Ulgen SG, Yardibi H. (2008). "In vivo assessment of antiabetic and antioxidant activities of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*), in alloxan-diabetic rabbits". J Ethnopharmacol. 116:64-73.
9. Bustanji Y. Issa A. Mohammad M. Hudaib M. Tawah K. Alkhatib H. et al. (2010). "Inhibition of hormone sensitive lipase and pancreatic lipase by *Rosmarinus officinalis* extract and selected phenolic constituents". J Med Plants Res. Vol 4:2235-4.
10. Cui L. Kim MO. Seo JH. Kim IS. Kim NY. Lee SH. Park J. Kim J. & Lee HS: (2012). "Abietane diterpenoids of *Rosmarinus officinalis* and their diacylglycerol acyltransferase-inhibitory activity". Food Chem 132:1775-1780
11. Dimitru G. Dimitrascu S. Axinte EV. & Todirascu E. (2016). "The Antioxidant Effect of *Rosmarinus officinalis* L. Hydro Alcoholic Extract on Wheat". Iranian Journal of Public Health. 45 (10): 1378-1380.
12. El-Naggar SA, Abdel-Farid IB, Germoush MO, Elgebaly HA, Alm-Eldeen AA. (2016). "Eficacia de *Rosmarinus officinalis* extracto de hojas contra la hepatotoxicidad inducida por ciclofosfamida". Pharm. Biol. 54(10).
13. Gamboa-Gómez C, Rocha-Guzmán N, Gallegos-Infante J, Moreno-Jiménez M, Vázquez-Cabral D, González-Laredo R. (2015). "Plants with potential use on obesity and its complications". EXCLI Journal;14:809-831 – ISSN 1611-2156
14. Gomes A. Silva M. Cazarolli L. Czermainski B. Carvalho L. & Da Silva Z. (2014). Betulinic acid and 1,25(OH)₂ vitamin D₃ share intracellular signaltransduction in glucose homeostasis in soleus muscle. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 48: 18– 27.
15. González T. Peña E. Martínez A. Moreno P. Guevara-F. Déciga C. & López-M. (2007). "Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents". 111: 476–482.
16. González-Vallinas, M. Molina, S. Vicente, G. Zarza, V. Martín-Hernández, R. García-Risco, M.R. Fornari, T. Reglero, G. de Molina, A.R. (2014). "Expression of MicroRNA-15b and the Glycosyltransferase GCNT3 Correlates with Antitumor Efficacy of Rosemary Diterpenes in Colon and Pancreatic Cancer". PLoS ONE, 9, e98556
17. Harach T, Aprikian O, Monnard I, Moulin J, Membrez M, Beolor JC, et al. (2010). "Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) leaf extract limits weight gain and liver steatosis in mice fed a high-fat diet". Planta Med;76:566–71.
18. Herzing S. Long F. Jhala US. Et al. (2001) "CREB regulates hepatic gluconeogenesis through the coactivator PGC-1". Nature 413:179-183.
19. Hsieh CL, Peng CH, Chyau CC, Lin YC, Wang HE, Peng RY. (2007). "Low-density lipoprotein, collagen, and thrombin models reveal that *Rosmarinus officinalis* L. exhibits potent antiglycative effects". J Agric Food Chem 55:2884–2891.
20. Ibáñez, C. Simó, C. García-Cañas, V. Gómez-Martínez, Á. Ferragut, J.A. Cifuentes, A. (2012). "CE/LC-MS multiplatform for broad metabolomic analysis of dietary polyphenols effect on colon cancer cells proliferation". Electrophoresis. 33, 2328–2336.
21. Ibarra A, Cases J, Roller M, Chiralt-Boix A, Coussaert A, Ripoll C. (2011). "Carnosic acid-rich rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) leaf extract limits weight gain and improves cholesterol levels and glycaemia in mice on a high-fat diet". Brit J Nutr;106:1182–9.
22. Jayanthi G. Subramanian S. (2014). "Rosmarinic acid, a polyphenol, ameliorates hyperglycemia by regulating the key enzymes of carbohydrate metabolism in high fat diet—STZ induced experimental diabetes mellitus". Biomed Prev Nutr 4:431–437.

23. Karthik D, Viswanathan P, Anuradha CV (2011) Administration of rosmarinic acid reduces cardiopathology and blood pressure through inhibition of p22phoxNADPH oxidase in fructose-fed hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 58:514–521. doi:10.1097/FJC.0b013e31822c265d
24. Kim SJ, Kim JS, Cho HS, Lee HJ, Kim SY, Kim S, et al. (2006). “Carnosol, a component of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) protects nigral dopaminergic neuronal cells”. *Neuroreport*;17:1729-33.
25. Kosaka K, Yokoi T. (2003). “Carnosic acid, a component of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), promotes synthesis of nerve growth factor in T98G human glioblastoma cells”. *Biol Pharm Bull*;26:1620-2. Epub 2003/11/06.
26. Labban L, Mustafa US, & Ibrahim YM. (2014). “The effects of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) leaves powder on glucose level, lipid profile and lipid peroxidation”. *International Journal of Clinical Medicine*.
27. Lee JJ, Jin YR, Lee JH, Yu JY, Han XH, Oh KW, Hong JT, Kim TJ, Yun YP. (2007). “Antiplatelet activity of carnosic acid, a phenolic diterpene from *Rosmarinus officinalis*”. *Planta Med*;73(2):121-7.
28. Li J, Adegoke T, Wang S, Ruan J, Yang S, Li X, Zhang Y, & Wang T. (2017). “Inhibitory Effects of Constituents from the Aerial Parts of *Rosmarinus officinalis* L. on Triglyceride Accumulation”. *Molecules*. 22(1):1-11.
29. Lipina C, & Hundal HS. (2014). “Carnosic acid stimulates glucose uptake in skeletal muscle cells via a *PME-1/PP2A/PKB* signalling axis”. *Cell Signal*. 26(11):2343-9.
30. Machado DG, Neis VB, Balen GO, Colla A, Cunha MP, Dalmarco JB, Pizzolatti MG, Prediger RD, Rodrigues AL. (2012). “Antidepressant-like effect of ursolic acid isolated from *Rosmarinus officinalis* L. in mice: evidence for the involvement of the dopaminergic system”. *Pharmacol Biochem Behav*;103(2):204-11.
31. Machado DG, Cunha MP, Neis VB, Balen GO, Colla A, Bettio LE, Oliveira, Pazini FL, Dalmarco JB, Simionatto EL, Pizzolatti MG, Rodrigues AL. (2013). “Antidepressant-like effects of fractions, essential oil, carnosol and betulonic acid isolated from *Rosmarinus officinalis* L”. *Food Chem*;136(2):999-1005.
32. Machado DG, Bettio LEB, Cunha MP, Capra JC, Dalmarco JB, Pizzolatti MG, Rodrigues ALS. (2009). “Antidepressant-like effect of the extract of *Rosmarinus officinalis* in mice: involvement of the monoaminergic system”. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*;33(4):642-50. Doi: 10.1016/j.pnpbp.2009.03.004.
33. Medicherla K, Ketkar A, Sahu B, Sudhakar G, & Sistla R. (2016). “*Rosmarinus officinalis* L. extract ameliorates intestinal inflammation through MAPKs/NF- κ B signaling in a murine model of acute experimental colitis”. *Alimentación y función*. 7 (7): 3233-3243.
34. Minaiyan M, Ghannadi A, Afsharipour M, & Mahzouni P. (2011). “Effects of extract and essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. on TNBS-induced colitis in rats”. *Research Pharmaceutical Sciences*. 6(11): 13-21.
35. Moore J, Yousef M, Tsiani E. (2016). “Anticancer Effects of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Extract and Rosemary Extract Polyphenols”. *Nutrients* 8(731)
36. Naemura A, Ura M, Yamashita T, Arai R, Yamamoto. (2008). “Long-term intake of rosemary and common thyme herbs inhibits experimental thrombosis without prolongation of bleeding time”. *J. Thromb Res*;122(4):517-22.
37. Naimi M, Tsakiridis T, Stamatatos T, & Alexandropoulos D. (2015). Increased skeletal muscle glucose uptake by rosemary extract through AMPK activation. *Appl. Physiol. Nutr. Metab*. 40: 407–413.
38. Olah. N, Osser G, Furtuna F, Benedec D, Filip L, Raita O, & Hanganu D. (2016). “The study of polyphenolic compounds profile of some *Rosmarinus officinalis* L. extracts”. *Pak J Pharm Sci*. 29 (6): 2355-2361.
39. Ozarowski M, Mikolajczak PL, Bogacz A, Gryszczyńska A, Kujawska M, Jodynis-Liebert J, et al. (2013). “*Rosmarinus officinalis* L. leaf extract improves memory impairment and affects acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities in rat brain”. *Fitoterapia*;91:261-71.
40. Pérez-Sánchez, A, Barrajón-Catalán, E, Caturla, N, Castillo, J, Benavente-García, O, Alcaraz, M, Micol, V. (2014). “Protective effects of citrus and rosemary extracts on UV-induced damage in skin cell model and human volunteers”. *J. Photochem. Photobiol. B*, 136, 12–18
41. Rašković A, Milanović I, Pavlović N, Čebović T, Vukmirović S, Mikov M. (2014). “Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil and its hepatoprotective potential”. *BMC Complement Altern M*.

42. Slamenova, D.; Kuboskova, K.; Horvathova, E.; Robichova, S. (2002). "Rosemary-stimulated reduction of DNA strand breaks and FPG-sensitive sites in mammalian cells treated with H₂O₂ or visible light-excited Methylene Blue". *Cancer Lett.* 177, 145–153.
43. Soria-Fregozo C, Miranda-Beltran M, Flores-Soto ME, Perez-Vega MI, Rodriguez-Rodriguez RY, Lopez-Velazquez AL, Huacuja-Ruiz L, Beas-Zarate C. (2012). "Protective effect of *Rosmarinus officinalis* L. on the expression of the glutamate transporter (GLT-1) and neuronal damage in the frontal cortex of CCl₄-induced hepatic damage". *J Med Plants Res.*
44. Sotelo-Félix JI, Martínez-Fong D, Muriel De la Torre P. (2002). "Protective effect of carnosol on CCl₄-induced acute liver damage in rats". *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2002a; 14(9):1001-6.
45. Sotelo-Félix JI, Martínez-Fong D, Muriel P, Santillán RL, Castillo D, Yahuaca P. (2002). "Evaluation of the effectiveness of *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) in the alleviation of carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in the rat". *J Ethnopharmacol.* 2002b; 81(2):145-54
46. Tognolini M, Barocelli E, Ballabeni V, Bruni R, Bianchi A, Chiavarini M, Impicciatore M. (2006). "Comparative screening of plant essential oils: phenylpropanoid moiety as basic core for antiplatelet activity". *Life Sci.* 78(13):1419-32. Epub 2005 Nov 7.
47. Tsai CW, Liu KL, Lin YR, KuoWC. (2014). "The mechanisms of carnosic acid attenuates tumor necrosis factor-alpha-mediated inflammation and insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes". *Mol Nutr Food Res* 58: 654–664. doi:10.1002/mnfr.201300356.
48. Tu Z, Moss-Pierce T, Ford P, Jian TA. (2013). Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract regulates glucose and lipid metabolism by activating AMPK and PPAR pathways in HepG2 cells. *J Agric Food Chem.* 20;61 (11):2803-10
- Valdés, A. Garcia-Canas, V. Rocamora-Reverte, L. Gomez-Martinez, A. Ferragut, J.A.Cifuentes, A. (2013). "Effect of rosemary polyphenols on human colon cancer cells: Transcriptomic profiling and functional enrichment analysis". *Genes Nutr*, 8, 43–60.
49. Vanithadevi B., Anuradha C.V. (2008). "Effect of rosmarinic acid on insulin sensitivity, glyoxalase system and oxidative events in liver of fructose-fed mice". *Int. J. Diabetes Metab.* 16, 35–44.
50. Ventura R, Rivero O, Gómez C, & González M. (2011). "Spasmolytic activity of *Rosmarinus officinalis* L. involves calcium channels in the guinea pig ileum". *ELSEVIER. Diario de Etnofarmacología.* Vol. 137 (3): 1528-1532.
51. Wang T, Takikawa Y, Satoh T, et al. (2011). "Carnosic acid prevents obesity and hepatic steatosis in ob/ob mice". *Hepatol Res* 41:87–92.
52. Wargovich MJ, Woods C, Hollis DM, & Zander ME. (2001). *Hierbas, prevención del cáncer y la salud.* Diario de Nutrición, 131, 3034S-3036S.
53. Xie L, Ortega MT, Mora S, Chapes SK (2010) Interactive changes between macrophages and adipocytes. *Clin Vaccine Immunol* 17:651– 659. doi:10.1128/CVI.00494-09.
54. Yam D, Friedman J, Bott-Kanner G, Genin I, Shinitzky M, Klainman E (2002) Omega-3 fatty acids reduce hyperlipidaemia, hyperinsulinaemia and hypertension in cardiovascular patients. *J Clin Basic Cardiol* 5:229–231
55. Yamamoto J, Yamada K, Naemura A, Yamashita T, Arai R. Testing various herbs for antithrombotic effect. *Nutrition.* 2005 May;21(5):580-7..
56. Yung YS, Noda S, Shigemori G, et al. (2013). Phenolic diterpenes from Rosemary suppress cAMP responsiveness of gluconeogenic gene promoters. *Phytother Res.* 27(6):906-10.
57. Zhang Y, Chem X, Yang L, & Lu Q. (2015). Effects of rosmarinic acid on liver and kidney antioxidant enzymes, lipid peroxidation and tissue ultrastructure in aging mice. *Food and Function.*
58. Zhi X, Ling Z, Xiao W, Meng L, Hua Y, & Xiao X. (2016). Petroleum ether sub-fraction of rosemary extract improves hyperlipidemia and insulin resistance by inhibiting SREBPs. *ELSEVIER, Chinese Journal of Natural Medicines.* 14(10): 746-756.

MODELO DE TIPIFICACIÓN PIRAMIDAL DE LA CORTEZA VISUAL DE RATÓN

María Eugenia Pérez Bonilla, Marleni Reyes Monreal,
Jessica Quintero Pérez y Arturo Reyes Lazalde

Facultad de Ciencias Biológicas BUAP, Puebla, Pue. México.
Facultad de Artes Plásticas BUAP, Puebla, Pue. México.
Universidad de Alcalá, España.

RESUMEN

A diferencia de la mayoría de tipos celulares especializados, la morfología de las neuronas cerebrales corticales es extraordinariamente compleja y variable, dependiente de múltiples factores. Prácticamente, la morfología de cada neurona es única y por ende su estudio y análisis resulta más complicado y prolongado. Con el propósito de facilitar la comprensión de temas de actualidad científica se elaboraron modelos que integran los datos abstractos, numéricos, geométricos y conceptuales del tema. En este caso, con base en los reportes de diversos autores se integró la información, micrografías y modelos bidimensionales de las neuronas piramidales de la corteza visual primaria de ratón (*Mus musculus*), adulto, sano, para elaborar la modelización computacional integral del tema. Se presentan y resumen tres de los aspectos del análisis morfométrico realizado: I. el modelo de laminación cortical visual del ratón adulto, que incluye una tabla con el espesor y profundidades de las seis capas básicas. II. un modelo de tipificación morfológica de las neuronas piramidales de corteza visual primaria de ratón, basada en ocho morfotipos distinguibles microscópicamente: 1) mechón angosto (STLx: slender-tufted), 2) mechón ancho con bifurcación proximal (TTLx-PB: thick-tufted early bifurcating apical tuft), 3) mechón ancho con bifurcación distal (TTLx-DB: thick-tufted late bifurcating apical tuft), 4) sin mechón (UTLx: untufted), 5) estelares (SLx: star), 6) atípicas (ALx: atypical), 7) inespecíficas (ULx: unspecific) y 8) interlaminales (ILx/x: interlaminar). III. un modelo 2D de la morfología de los seis morfotipos piramidales más estudiados y representativos: STL5, TTL5-PB, TTL5-DB, UTL6, SL4 y AL6, empalmados en el modelo de corteza visual. El conocimiento de los parámetros morfométricos neuronales básicos facilita el reconocimiento y la morfotipificación de las neuronas piramidales de la corteza cerebral de roedores.

INTRODUCCIÓN

Morfofisiológicamente, el cerebro de los mamíferos es el órgano animal más complejo, compuesto por una diversidad de tipos celulares neuronales especializados que expresan diferentes genes; encargado coordinar y regular una amplia variedad de funciones biológicas sensoriales, motoras, mentales, cognitivas y emocionales (conscientes, subconscientes e inconscientes). Diversos grupos científicos se esfuerzan por obtener una tipificación celular objetiva, basada en las características morfológicas, cuantitativas, electrofisiológicas y moleculares (Brumberg y cols., 2003, Tsiola y cols., 2003, Groh y cols., 2010, Callaway y Borrell, 2011, Elston y Fujita, 2014, Cossell y cols., 2015, Markram y cols., 2015, Xu y cols., 2016); desafío que a la fecha permanece inconcluso. Las restricciones obvias para el estudio invasivo del cerebro humano sano, conducen a la experimentación en modelos animales. En el área biomédica el modelo animal de experimentación más utilizado es el ratón de laboratorio. A nivel cerebral, el mayor número de neuronas se concentra en la corteza cerebral y la región cerebral más estudiada es la región visual primaria. En este trabajo se aborda el análisis histológico y celular de las neuronas piramidales (neuronas cuyo soma tiene forma de pirámide) de la corteza visual primaria del ratón.

Las neuronas PIRAMIDALES de la corteza visual de ratón

Cuatro de los parámetros básicos del análisis morfométrico de la corteza cerebral de mamíferos son: la ubicación, el tamaño, la estructura morfológica y la tipificación celular de las neuronas piramidales. La corteza visual del ratón adulto contiene aproximadamente 1,000 000 de células en total, alrededor del 50% de ellas son neuronas. Funcionalmente, se subclasifican en neuronas excitatorias o glutamatérgicas (80%) e inhibitorias o GABAérgicas (20%), de acuerdo al neurotransmisor sináptico que liberan (Tasic y cols., 2016). A nivel tisular, las neuronas se encuentran organizadas e interconectadas verticalmente (en columnas) y horizontalmente (en capas). Morfológicamente, las neuronas se subclasifican en piramidales y no piramidales; a su vez las piramidales se subclasifican de acuerdo a la ubicación del soma en la corteza cerebral. La corteza cerebral de

los mamíferos es una estructura hexalaminar (L1-L6), cada lámina (capa o estrato) está compuesta de un conjunto característico de tipos celulares, con propiedades morfológicas, electrofisiológicas, conectivas y moleculares diversas. Estructuralmente, Markram y cols. (2015) distinguen 58 tipos de neuronas corticales, 42 tipos no piramidales y 16 de tipo piramidal en corteza somatosensorial de rata y elaboran los perfiles morfológicos mediante reconstrucción computacional.

En el 2016, Xu y cols. publican una composición micrográfica que muestra los perfiles morfológicos de siete tipos piramidales de corteza visual primaria de ratón, obtenidos mediante microscopía electrónica de epifluorescencia (figura1).

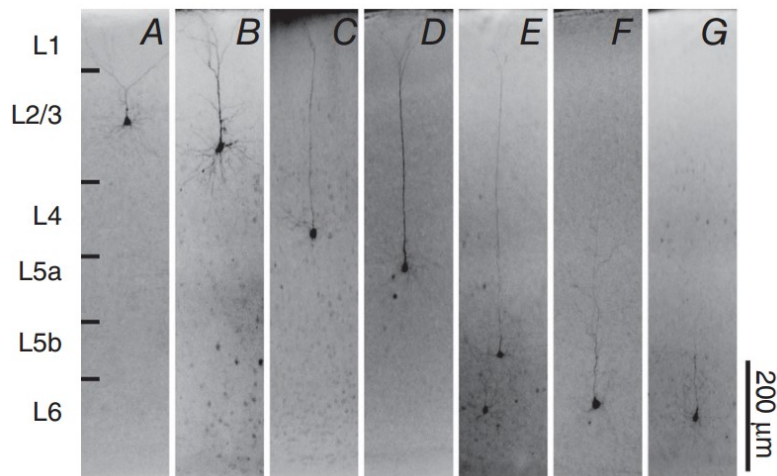


Figura 1. Perfiles morfológicos de las neuronas piramidales excitatorias de corteza cerebral visual primaria de ratón adulto. Composición micrográfica obtenida por microscopía de epifluorescencia, tinción con biocitina y contraste DAPI para establecer la identidad de la capa (Xu y cols., 2016).

- A: Neurona piramidal excitatoria representativa de la capa 2/3, con dendritas apicales truncadas.
 B: Neurona piramidal capa 2/3, con dendritas apicales más largas que proyectan a la superficie pial.
 C: Neurona piramidal L4, con dendritas apicales que se proyectan hacia la superficie pial.
 D: Neurona piramidal L5a, muestran diversos tipos de mechones dendríticos
 E: Neurona piramidal L5b, presentan los segmentos apicales más largos.

METODOLOGÍA

Con base en los antecedentes, se elaboraron tres modelos infográficos de la organización y estructura celular de las neuronas piramidales de la corteza visual primaria del ratón.

Formato infográfico: A fin de facilitar la enseñanza-aprendizaje del tema, se elaboraron modelos didácticos, integrativos, en formato infográfico (descripciones con imágenes). En todos los casos, la traducción al español de los términos morfofisiológicos y técnicos se realizó con referencia a la morfología y microestructura neuronal.

Modelo de laminación cortical visual: Los datos se obtuvieron a partir de la composición micrográfica reportada por Xu y cols., 2016. Los valores de espesor de cada lámina y su profundidad se calcularon en referencia a la barra de calibración. La tabla y el diagrama se realizaron con el programa Microsoft Word® y PowerPoint®.

Modelo de tipificación morfológica neuronal: Se revisaron los modelos microestructurales de las neuronas piramidales y tipificaciones reportados en los últimos trece años, desde Tsiola y cols., 2003 hasta Xu y cols., 2016. Se compararon, capturaron y analizaron los datos de interés y se adoptó la nomenclatura y tipificación de Markram y cols., 2015. La información relevante se tabuló con el programa Microsoft Word®.

Modelo microestructural piramidal: A partir de los modelos reportados, se seleccionaron y reprodujeron seis modelos 2D, los más representativos de seis de los morfotipos piramidales: TTL5-PB, TTL5-DB, STL5, UTL6,

SL4 y AL6; y se integró una composición de las imágenes en blanco y negro, que se empalmó con la distribución laminar cortical. Las imágenes se elaboraron a escala, con el programa Adobe Illustrator®.

RESULTADOS

En este trabajo se presenta de modo resumido, la actualización de tres modelos relacionados con la organización celular y tisular de las neuronas piramidales de la corteza visual primaria del ratón (*Mus musculus*), en etapa adulta.

MODELO DE LAMINACIÓN CORTICAL VISUAL DEL RATÓN

El modelo hexalaminar cortical visual del cerebro de ratón adulto, se basa en la delimitación de seis estratos (llamados láminas, capas o niveles), distinguibles y apreciables mediante técnicas electrofisiológicas, histológicas y/o moleculares, señalizados como L1 – L6. El límite entre L2 y L3 habitualmente es muy difuso, razón por la que se prefiere manejar en conjunto como L2/3; en tanto que en la L5 se pueden reconocer dos subniveles (L5a y L5b). Según este modelo, el espesor total de la corteza visual primaria varía de 840 a 865 micrómetros (casi 1 mm) y el orden decreciente de espesor es: L5, L2/3, L6, L4 y L1. En la figura 2, se muestra el patrón de laminación y una tabla que concentra los valores del espesor y profundidades de las láminas básicas.

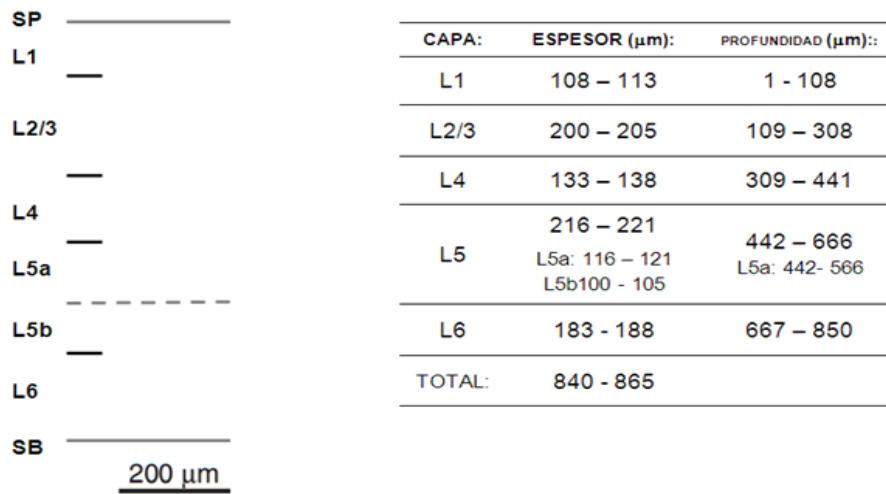


Figura 2. Modelo de laminación cortical visual del cerebro de *Mus musculus* adulto. Del lado izquierdo se esquematiza el modelo hexalaminar cortical a escala. En la tabla del lado derecho se incluyen los valores de espesor y profundidad de cada lámina. SP: superficie pial, L1: lámina o capa 1, L2/3: láminas 2 y 3, L4: lámina 4, L5a: porción superior de la lámina 5, L5b: porción inferior de la lámina 5, L6: lámina 6, SB: sustancia blanca. Datos basados en Xu y cols., 2016.

MODELO DE TIPIFICACIÓN MORFOLÓGICA DE LAS NEURONAS PIRAMIDALES

Aunque la estructura morfológica de cada neurona piramidal es diferente, se pueden reconocer patrones morfológicos generales que sustentan la tipificación celular de las neuronas piramidales. Con base en la clasificación neuronal de Markram y cols. (2015), en neuronas piramidales de corteza somatosensorial de rata, resulta conveniente extender el modelo para la tipificación morfológica de las neuronas piramidales de corteza visual primaria de ratón. Acorde con este modelo se plantean ocho morfotipos distinguibles microscópicamente: 1) mechón ancho con bifurcación distal (TTLx-DB: thick-tufted late bifurcating apical tuft), 2) mechón ancho con bifurcación proximal (TTLx-PB: thick-tufted early bifurcating apical tuft), 3) mechón angosto (STLx: slender-tufted), 4) sin mechón (UTLx: untufted), 5) estelares (SLx: star), 6) atípicas (ALx: atypical), 7) interlaminales (ILx/x: interlaminar) y 8) inespecíficas (ULx: unspecific). Los rasgos estructurales referentes de cada categoría, que facilitan la tipificación de las neuronas se resumen en la tabla 1.

TIPO:	CARACTERÍSTICAS:
TTLx-DB	Mechón ancho con bifurcación distal (thick-tufted late bifurcating apical tuft) Mechón dendrítico amplio (amplitud igual o mayor al 50% de la amplitud de ADB). Bifurcación tardía del tallo dendrítico apical (entre el 41-80% de su longitud total). Segmento superior alargado (longitud del ADA mayor que la amplitud del mechón). Las neuronas más largas se encuentran en la capa cinco.
TTLx-PB	Mechón ancho con bifurcación proximal (thick-tufted early bifurcating apical tuft) Mechón dendrítico amplio (amplitud igual o mayor al 50% de la amplitud de ADB). Bifurcación temprana del tallo dendrítico apical (inferior al 40% de su longitud total). Segmento superior alargado (longitud del ADA mayor que la amplitud del mechón). Las neuronas más largas se encuentran en la capa cinco.
STLx	Mechón angosto (slender-tufted) Mechón dendrítico angosto (amplitud menor al 50% de la amplitud de ADB). La amplitud del ADB es considerablemente mayor que la del mechón Segmento superior alargado (longitud del ADA mayor que la amplitud del mechón). Las neuronas más largas se encuentran en la capa cinco.
UTLx	Sin mechón (untufted) Ausencia de mechón dendrítico apical. Segmento superior alargado (longitud del ADA mayor que la amplitud del mechón). Las neuronas más largas se encuentran en la capa seis.
SLx	Estrelladas, estelares (star). Árbol dendrítico radial al soma Las amplitudes dendríticas vertical y horizontal son muy semejantes.
ALx	Atípicas (Atypical) Orientación somática atípica variable (inclinadas). Con desviación del eje dendrítico apical mayor a 20° del eje vertical. Variación de la posición oblicua a la horizontal. Son más abundantes en la capa seis.
ILx/x	interlaminales (interlaminar) Su soma se encuentra entre los límites de dos láminas.
ULx	inespecíficas (unspecific) Todas aquellas que no correspondan a ninguno de los siete tipos mencionados.

Tabla 1.

Parámetros de tipificación morfológica de neuronas piramidales de corteza cerebral visual de *Mus musculus*. En la columna del tipo neuronal, la “x” se refiere a la variabilidad de lámina (puede ser de L2 a L6).
 ADA: árbol dendrítico apical, ADB: árbol dendrítico basal. (Basada en Markram y cols., 2015).

MORFOLOGÍA REPRESENTATIVA DE 6 MORFOTIPOS PIRAMIDALES

En la figura 3 se muestra un modelo 2D de la morfología de seis de los morfotipos piramidales más estudiados y representativos: TTL5-PB, TTL5-DB, STL5, UTL6, SL4 y AL6, empalmados en el modelo de corteza visual.

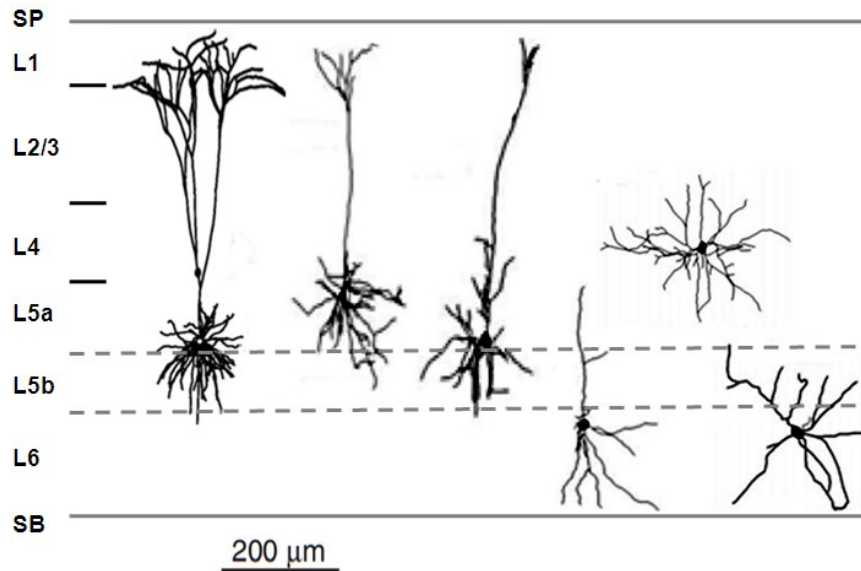


Figura 3. Morfología representativa de 6 morfotipos piramidales de corteza visual primaria de *Mus musculus* adulto. Se incluyen seis ejemplos de la morfología representativa de seis de los tipos piramidales. De izquierda a derecha: TTL5-PB, TTL5-DB, STL5, UTL6, SL4 y AL6. En las tres neuronas L5 se suprimió la porción axonal.

CONCLUSIONES

Las neuronas piramidales corticales cerebrales presentan un patrón de organización celular en el plano horizontal y vertical (microcolumnar). El conocimiento de los parámetros morfométricos neuronales básicos, facilita el reconocimiento y la morfotipificación de las neuronas piramidales de la corteza cerebral de mamíferos. Para fines didácticos de enseñanza-aprendizaje de temas de morfofisiología celular a nivel de licenciatura, es de gran utilidad la elaboración de modelos infográficos que faciliten la comprensión conceptual de los temas. En este trabajo se presenta la primera versión de tres modelos infográficos de la organización neuronal piramidal de la corteza visual primaria del ratón:

1. La laminación cortical visual: hexalaminar, L5 y L6 son las más estudiadas por el mayor grosor. Los somas de las neuronas piramidales se distribuyen en el espesor de L2 a L6; L1 carece de somas; en tanto que los axones se extienden hasta diversos niveles subcorticales.
2. Los perfiles morfológicos: son elementos de utilidad para la tipificación celular de las neuronas piramidales, considerando la ubicación del soma y las variantes morfológicas hay alrededor de 40 tipos piramidales distinguibles por métodos histológicos.
3. La reproducción 2D de los seis ejemplos más representativos: TTL5-PB, TTL5-DB, STL5, UTL6, SL4 y AL6, las más estudiadas debido a sus características morfométricas y facilidades técnicas. Por tamaño, las L5 son extraordinariamente alargadas, llamadas también neuronas gigantes. Por abundancia, las diversas variantes de mechón dendrítico apical. Por su orientación y facilidad de reconocimiento, las atípicas y las estelares por su índice morfológico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Brumberg JC, Hamzei-Sichani F y Yuste R. (2003). Morphological and physiological characterization of layer VI corticofugal neurons of mouse primary visual cortex. *J Neurophysiol.* 89: 2854-2867. doi: 10.1152/jn.01051.2002.
2. Callaway EM Y Borrell V. (2011). Developmental sculpting of dendritic morphology of Layer 4 neurons in visual cortex: influence of retinal input. *J Neurosci.* 31(20): 7456–7470. doi:10.1523/JNEUROSCI.5222-10.2011.

3. Cossell L, Iacaruso MF, Muir DR, Houlton R, Sader EN, Ko H, Hofer SB, Mrsic-Flogel TD. (2015). Functional organization of excitatory synaptic strength in primary visual cortex. *Nature Letter*, 518: 399-407. doi:10.1038/nature14182.
4. Elston GN y Fujita I. (2014). Pyramidal cell development: postnatal spinogenesis dendritic growth, axón growth, and electrophysiology. *Frontiers Neuroanatomy*. 8(78): 1-20. doi: 10.3389/fnana.2014.00078.
5. Groh A, Meyer HS, Schmidt EF, Heintz N, Sakmann B y Krieger P. (2010). Cell-type specific properties of pyramidal neurons in neocortex underlying a layout that is modifiable depending on the cortical area. *Cerebral Cortex*. 20: 826-836. doi:10.1093/cercor/bhp152.
6. Markram H, Muller E, Ramaswamy S, Reimann M, Abdellah M y 75 cols. más. (2015). Reconstruction and simulation of neocortical microcircuitry. *Cell*. 163(2): 456-492.
7. Tsiola A, Hamzei-Sichani F, Peterlin Z y Yuste R. (2003). Quantitative morphologic classification of layer 5 neurons from mouse primary visual cortex. *J. Comp. Neurol*. 461: 415-428.
8. Xu X, Olivas ND, Ikrar T, Peng T., Holmes TC, Nie Q y Shi Y. (2016). Primary visual cortex shows laminar-specific and balanced circuit organization of excitatory and inhibitory synaptic connectivity. *J. Physiol. Neurosci*. 594(7): 1891–1910.

OPTIMIZACIÓN DE LA MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA PARA OBTENER EL PERFIL CROMATOGRÁFICO APOLAR DE POLVOS DE CAFÉ OAXAQUEÑOS

María de Jesús Santa Gutiérrez Ponce

Instituto de Química de la Universidad del Papaloapan, Campus Tuxtepec. Circuito Central #200, colonia Parque Industrial, Tuxtepec, Oax., México C.P. 68301; mgutierrez@unpa.edu.mx

RESUMEN

Una de las bebidas más populares en el mundo es el café, por lo consiguiente, su consumo aumenta de manera permanente. Los granos de café contienen centenas de sustancias químicas incluyendo alcaloides como la cafeína, carbohidratos, grasas, proteínas, vitaminas, ácidos orgánicos, minerales y sustancias aromatizantes.[1] La caracterización de este tipo de productos es necesaria para detectar adulteraciones y/o falsificaciones de los mismos; dichas adulteraciones ocurren al mezclarlos o sustituirlos con otros productos como: arroz, cebada, centeno, entre otros granos, o con remolacha.[2] En el presente trabajo se muestra la optimización de la técnica de microextracción en fase sólida (MEFS) para obtener el perfil de los polvos de café por cromatografía de gases con detección ionización en llama, CG-FID; el perfil cromatográfico podrá usarse como una huella digital que identifica al café de la región de Tuxtepec, Oaxaca. La MEFS permite separar grupos de compuestos con características químicas semejantes, esto en función del recubrimiento de las fibras de extracción, así, para extraer los compuestos apolares del café, fueron usadas fibras con recubrimiento de polidimetilsiloxano (PDMS, material apolar). La optimización de la MEFS involucra variables como: el grosor del recubrimiento 7, 30 y 100 μm ; la temperatura de extracción; el grado de agitación; los tiempos de pre-equilibrio, exposición y desorción. Los mejores resultados se obtuvieron con las fibras de 7 μm , a 40°C, 10 min de pre-equilibrio, 20 min de exposición, 30 s de desorción y la agitación en el nivel 2.

* Agradecimiento al apoyo PROMEP No. DSA/103.5/15/7430

INTRODUCCIÓN

El café es una bebida muy popular que se consume en todo el mundo. En términos de valor financiero, es el producto agrícola más importante después del petróleo. Además, el consumo de café está aumentando en todo el mundo, en 2011 el café tostado generó unos 75400 millones de dólares en el mercado minorista mundial. Los líderes mundiales en la producción de café son Brasil, Vietnam, Indonesia y Colombia, mientras que los principales consumidores son Estados Unidos, Alemania, Japón, Italia y Francia. [3]

México ocupa el quinto lugar a nivel mundial como país productor de café, cultivándose principalmente la variedad *Coffea arabica*, siendo ésta la de más alta calidad, y tan solo el 3% es de la variedad robusta (baja calidad). [4]

El aroma del café ha sido objeto de muchas investigaciones. Los compuestos volátiles son responsables de la mayoría de los aromas alimenticios. Como resultado de dichas investigaciones, se han identificado más de 700 compuestos, pertenecientes a familias químicas tan diferentes como hidrocarburos, alcoholes, éteres, aldehídos, cetonas, ácidos, sulfuros, mercaptanos, fenoles, furanos, pirroles, piridinas y pirazinas, no obstante ninguno de ellos puede distinguir una variedad de café en sí. Sin embargo, Costa-Freitas y Mosca, lograron comprobar que la fracción aromática de café puede emplearse para caracterizar cafés tostados de diferentes orígenes [5].

Dado que se han presentado casos de adulteración del café [2], el presente trabajo propone la obtención del perfil cromatográfico de los cafés producidos en la región de Tuxtepec Oaxaca para ser usados como huella digital que permita eventualmente encontrar diferencias con los polvos de café adulterados.

Es necesario hacer hincapié en la dificultad en realizar los análisis cuantitativos y cualitativos de los compuestos volátiles por su volatilidad y a que la mayoría de ellos, se encuentran a niveles de trazas, lo que se hace inevitable el uso de métodos de extracción que cubran ambas necesidades, es por ello que el presente trabajo usó la microextracción en fase sólida para obtener los compuestos volátiles apolares del café.

ANTECEDENTES

La microextracción en fase sólida

La microextracción en fase sólida, MEFS o SPME por sus siglas en inglés, fue desarrollada como una alternativa a las técnicas convencionales de extracción ya que desde su primera descripción la técnica ha sido aplicada intensamente en análisis de aire, agua, aceites y alimentos [6,7]

La MEFS fue desarrollada a principios de los años noventa por el equipo del Dr. Pawliszyn. Esta técnica no requiere el uso de solventes y permite la inyección directa en cromatografía de gases [8]. En la MEFS se tiene una fibra recubierta con una fase que sirve para la extracción, dicha fibra puede estar constituida de un polímero líquido o un sorbente sólido. Esta capa puede extraer diferentes tipos de moléculas, volátiles o no volátiles, de diferentes tipos de medios en fase líquida o gaseosa. La cantidad de moléculas extraídas por la fibra es proporcional a su concentración en la muestra, siempre y cuando se alcance el equilibrio termodinámico.

El método de MEFS resulta muy atractivo pues la extracción se realiza de manera rápida y puede ser llevada a cabo sin necesidad de utilizar solventes. Además el umbral de detección puede estar en el orden de partes por trillón (ppt).

Dentro de las ventajas de la MEFS se tienen: que al contrario que la extracción líquido-líquido ella no necesita grandes cantidades de solvente orgánico, los cuales son normalmente tóxicos, y en comparación con la extracción en fase sólida, la MEFS tiene la ventaja de minimizar la pérdida de analitos volátiles y de necesitar poco volumen de muestra.

Su principio operacional se basa en la sorción de las especies de interés en una película del material sorvente depositado en una fibra de sílice fundida. Durante el proceso, la fibra recubierta con la fase extractora se expone a una muestra (o a su *headspace*, al aire aprisionado o confinado entre el líquido y la fibra), extrayendo los compuestos que serán determinados. Una vez transcurrido el tiempo de extracción la fibra es retirada del frasco que contiene la muestra y es colocada en el inyector de un cromatógrafo de gases, donde los analitos son térmicamente desorvidos de la fibra y llevados a la columna de separación.

Además, en ella se efectúan en un solo paso de extracción, la limpieza y concentración de la muestra, posibilitando grande economía de tiempo, básicamente lo que llevaría jornadas de trabajo, se resumen a un par de horas o a veces fracciones de ellas, pero, primero, se deben buscar las condiciones de extracción óptimas.

Objetivo

- Encontrar las mejores condiciones de extracción usando MEFS, con fibras recubiertas con PDMS, para obtener el perfil cromatográfico de los compuestos volátiles apolares de los polvos de café de la región de Tuxtepec Oaxaca.

Parte experimental

Condiciones cromatográficas

El equipo de cromatografía de gases usado es un modelo 7890A GC Agilent, con detección por ionización en llama con inyector con divisor/sin divisor de flujo. La columna cromatográfica una SPB-5 (5% difenilsiloxano y 95% dimetilsiloxano; 60 m x 0.25 mm x 0.25 µm). El gas de arrastre N₂, a un flujo de 0.7 mL min⁻¹. El inyector fue equipado con un liner de diámetro interno de 0.75 µm y mantenido en el modo sin división de flujo.

La primera condición de programa de temperatura fue la utilizada por Ribeiro *et al.* [9] la temperatura del horno fue programada de la siguiente manera: de 40 °C para 150 °C, aumentando 7 °C por min, seguido de aumento de 30 °C por min de 150 °C hasta 260 °C. Dichas condiciones fueron modificadas gradualmente conforme se realizaron las extracciones, hasta quedar en: 40 °C por 1.5 min, de 40 °C a 100 °C a una velocidad de 20 °C/min donde permanece por 0.5 min y después pasa a 250 °C a 10 °C/min y permanece ahí por 1.5 minutos finalmente pasa a 300 °C a una velocidad de 20 °C/min y se mantiene por un minuto.

Condiciones de extracción

Se usaron como condiciones iniciales las descritas por Ribeiro *et al* [9] es decir, una fibra de SPME comercial y *holder* manual adquiridos de la compañía Supelco (Bellefonte, PA, EUA). Antes de su uso, las fibras se acondicionaron en el cromatógrafo de gas de acuerdo con la tabla 1.

Tabla 1. Características de las fibras para la microextracción en fase sólida.

Recubrimiento	Espesor del recubrimiento (µm)	Temperatura de acondicionamiento (°C)	Tiempo recomendado (min)
PDMS	7	320	30
	30	260	30
	100	260	30

Posteriormente, se pesaron 0.2500 g de polvo de café en un frasco de 5 mL, se adicionaron 2 mL de solución saturada de NaCl y la mezcla se mantuvo con agitación magnética, en ese momento se montó el sistema de microextracción, y se inició el conteo del tiempo de pre-equilibrio en una vez transcurrido el tiempo elegido se hizo la exposición de la fibra por el tiempo designado a la temperatura de estudio.

Para obtener el extracto apolar o poco polar del polvo de café de se modificaron variables como: el grosor del recubrimiento de polidimetilsiloxano PDMS; la temperatura de extracción; el grado de agitación; los tiempos de pre-equilibrio, de exposición y de desorción. En la tabla 2 se muestran los valores de las variables modificadas.

Tabla 2. Valores de las condiciones experimentales para realizar MEFS

Espesor del recubrimiento (μm)	Temperatura de extracción ($^{\circ}\text{C}$)	Tiempo de Pre-equilibrio (min)	Tiempo de desorción (s)	Nivel de agitación
7, 30 y 100	90, 45, 42, 40	5 y 10	5, 10 y 30	0.5, 1 y 2

Una vez realizada la modificación de alguna de las variables se hizo la desorción del extracto en el puerto de inyección del cromatógrafo y con el cromatograma se evaluó el efecto de dicha modificación tuvo sobre la extracción.

RESULTADOS

Al inicio de los experimentos se observaron extracciones muy bajas como las que se muestran en la figura 1

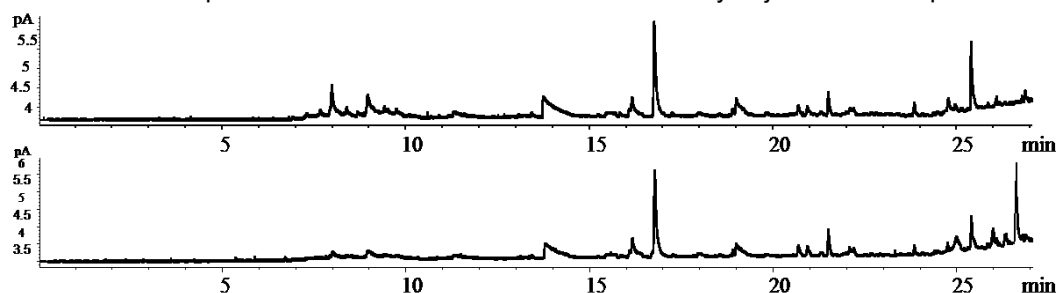


Figura 1 Dos cromatogramas obtenidos de una muestra de café de la región de Tuxtepec Oaxaca en las condiciones iniciales de microextracción. Columna SPB-5 (60 m x 0.25 mm x 0.25 μm), gas de arrastre N_2 a 0.7 mL min^{-1} . El inyector a 240 $^{\circ}\text{C}$ en el modo sin división de flujo y la detección a 315 $^{\circ}\text{C}$.

Los mejores resultados se obtuvieron con las fibras de 7 μm , a 40 $^{\circ}\text{C}$, 10 min de pre-equilibrio, 20 min de exposición a la fase gaseosa, 30 s de desorción y la agitación en el nivel 2. En la figura 2 se muestran tres cromatogramas obtenidos en dichas condiciones para una muestra de polvo de café de la región de Tuxtepec Oaxaca.

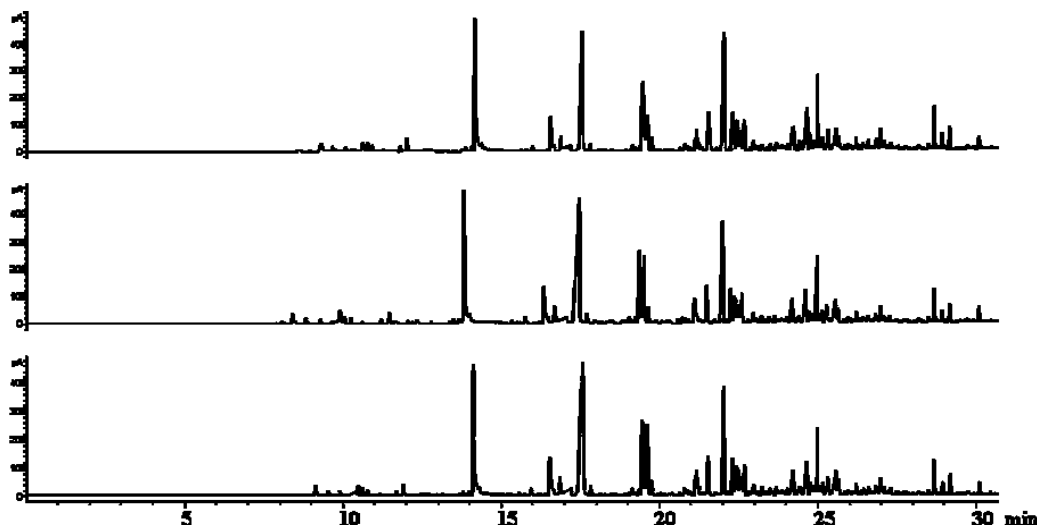


Figura 2 Tres cromatogramas obtenidos de una muestra de café de la región de Tuxtepec Oaxaca en las mejores condiciones de microextracción. Columna SPB-5 (60 m x 0.25 mm x 0.25 μ m), gas de arrastre N_2 a 0.7 mL min^{-1} . El inyector a 240 °C en el modo sin división de flujo y la detección a 315 °C.

CONCLUSIONES

Como es posible observar en la figura 2 las extracciones presentan prácticamente el mismo perfil cromatográfico, lo que permite afirmar que se logró la extracción de los compuestos apolares del café y su perfil cromatográfico correspondiente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cano-Marquina A, Tarín JJ, Cano A. "The impact of coffee on ealth". *Maturitas* 2013 75(1):7–21
2. *Revista del Consumidor* Marzo 2001, No. 289
3. International Coffee Organization (ICO) "Coffee value chain in selected importing countries". London: 2011.
4. SAGARPA, 2015.
5. Costa Freitas, A.M., Mosca A.I. "Coffee geographic origin - an aid to coffee differentiation" *Food Research International* 1999, 32, 565–573
6. Grover IS, Sharma R, Singh S, Pal B., "Polycyclic aromatic hydrocarbons in some grounded coffee brands". *Environ Monit Assess* 2013 185, 6459–6463
7. Arthur, C. L.; Pawliszyn, J.; "Solid Phase Microextraction with Thermal Desorption Using Fused Silica Optical Fibers" *Anal. Chem.* 1990, 62, 2145–2148
8. Balasubramanian, S. & Panigrahi, S., "Solid-Phase Microextraction (MEFS) Techniques for Quality Characterization of Food Products: A Review" *Food Bioprocess Technol* 2011, 4, 1–26
9. Ribeiro, J.S., Augusto F., Salva T.J.G, Thomaziello, R.A., Ferreira, M.M.C. "Prediction of sensory properties of Brazilian Arabica roasted coffees by *headspace* solid phase microextraction-gas chromatography and partial least squares" *Analytica Chimica Acta* 2009, 634, 172–179

NUEVOS REGISTROS Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE POLIQUETOS (ANNELIDA: POLYCHAETA) DE ISLA DEL CARMEN, CAMPECHE

García-Garza, M.E., Villarreal-Garza, J.A., García-Garza, M.G.

U.A.N.L. Fac. de Ciencias Biológicas, Lab. de Biosistemática, e-mail: maria.garciagza@uanl.edu.mx

RESUMEN

Los anélidos poliquetos representan al grupo de invertebrados marinos, con más de 16,000 especies conocidas y pueden llegar a conformar el mayor componente biótico de la fauna marina, alrededor del 70 % de todas las especies e individuos, tanto en las costas como en las grandes profundidades. Actualmente en las costas de México se han reconocido formalmente poco más de 1,500 especies, incluidas en 63 familias y 460 géneros. De acuerdo con Fauchald et al., 2009 de los 826 registros de especies de poliquetos para la cuenca del Golfo de México, el 53% se ubican en los estados de Tamaulipas, Veracruz, Tabasco y Campeche, y el 14% en Yucatán. Sin embargo los estudios taxonómicos continúan evidenciando descripciones de nuevas especies, nuevos registros y nuevos ámbitos de distribución geográfica, por lo que estas cifras pueden variar. El objetivo fue identificar la fauna poliquetológica de sustratos blandos y raspados de superficies duras. El material biológico examinado proviene de tres muestreos, en Isla del Carmen, Campeche a profundidades de 0.70 a 1.20m, en la zona de entre mareas. Las muestras fueron obtenidas manualmente, principalmente en fondos areno-fangosos, tamizando arena con tamices de luz de malla de 5.0 mm y raspados de superficies duras. En el laboratorio, los poliquetos fueron separados bajo un microscopio estereoscópico y transferidos a una solución de etanol al 80% para su preservación. En el presente trabajo se dan a conocer 16 nuevos registros de especies de poliquetos en Isla del Carmen, Campeche, *Pseudopolydora floridensis* se registran por primera vez en México y las especies *Branchiomma bairdi*, *Ficopomatus miamiensis* y *Notaulax midoculi* son reportadas como especies invasivas.

INTRODUCCIÓN

Los anélidos poliquetos constituyen un grupo de invertebrados marinos que incluye más de 16,000 especies conocidas; pueden llegar a conformar el mayor componente biótico de la fauna bentónica marina, alrededor del 70 % de la riqueza y la abundancia, tanto en las costas como en las grandes profundidades (Blake, 1994). Actualmente se han reconocido formalmente poco más de 1,500 especies en las costas de México, incluidas en 63 familias y 460 géneros (Tovar-Hernández et al., 2014). De acuerdo con Fauchald et al. (2009), de las 826 especies de poliquetos registradas en el Golfo de México, el 53% se ubica en los estados de Tamaulipas, Veracruz, Tabasco y Campeche, y el 14% en Yucatán. Los estudios taxonómicos continúan evidenciando descripciones de nuevas especies, nuevos registros y nuevos ámbitos de distribución geográfica, por lo que estas cifras pueden variar. El presente trabajo formó parte de un estudio taxonómico, sobre los anélidos poliquetos del litoral de la Isla del Carmen Campeche, en donde se recolectaron un total de 2084 especímenes, pertenecientes a 17 familias, 39 géneros y 49 especies. En esta contribución solo se dan a conocer 16 nuevos registros para esta localidad, *Pseudopolydora floridensis* se registra por primera vez en México, y las especies *Branchiomma bairdi* y *Ficopomatus miamiensis* son reportadas como especies invasoras.

MATERIAL Y MÉTODOS

El material biológico proviene de tres muestreos realizados en los litorales de la Isla del Carmen, durante los meses de enero y junio del 2011 y enero del 2012, a profundidades de entre 0.70 y 1.2 m, en la zona intermareal. Las muestras fueron obtenidas manualmente, principalmente en fondos areno-fangosos y se realizaron raspados en superficies duras. En el laboratorio, los poliquetos fueron separados utilizando un microscopio estereoscópico Olympus SZ 61 y transferidos a una solución de etanol al 80% para su preservación. Para la determinación taxonómica los organismos se agruparon en familias y géneros de acuerdo con Fauchald (1977), y a nivel específico se utilizó la literatura de: Solís-Weiss (1998), de León González et. al. (2009), Fauchald et al. (2009), analizando otra literatura especializada que se evidencia en cada especie. El material fue depositado en la Colección Poliquetológica de la UANL (NL-INV-0002-05-09).

RESULTADOS

Se recolectaron un total de 2,084 especímenes, pertenecientes a 17 familias, 39 géneros y 49 especies. En esta contribución solo se dan a conocer 16 nuevos registros para esta localidad, *Pseudopolydora floridensis* se registra por primera vez en México, y las especies *Branchiomma bairdi* y *Ficopomatus miamiensis* son reportadas como especies invasoras. Los resultados taxonómicos se presentan en orden alfabético, se incluyen referencias, material examinado y distribución geográfica.

***Mediomastus ambiseta* (Hartman, 1947)**

Capitita ambiseta Hartman, 1947:409-410, Lam. 45 Figs. 1-4; 1969:369-370, Figs.1-4; Blake y Walton, 1977:316.

Mediomastus ambiseta Hartman-Schröder, 1962:143, Fig.18; Warren et al., 1994: 234-236, Figs. 2a-5d-f, 6a-f, 12; Blake, 2000:76, Fig.4.11; Dean, 2001:76; 2004:136; García-Garza y de León-González, 2011: 31-32.

Localidad tipo: Bahía de Newport Harbour, Corona del Mar, California, EUA.

Material examinado: (1 espécimen) Isla del Carmen, playa Bahamitas, Campeche, Est. 3 [18°42'10.9"N, 091°41'89.9"W], 0.70 m, 03 enero 2011, col. María Elena García Garza (MEGG) y Julio Homero Landín Delgado (JHLD).

Distribución: California, EUA (Hartman, 1947, Blake, 2000), Baja California, Bahía de San Quintín (Reish, 1963) y Sinaloa (García-Garza y de León-González, 2011). Con el hallazgo de *M. ambiseta* en la localidad estudiada en este trabajo, el patrón de distribución cambia de Pacífico oriental a Amfiamericano.

***Rashgua lobatus* (Hartman, 1947)**

Notomastus lobatus Hartman, 1947:415, Lam. 51 Figs. 1-5; 1969:399, Figs. 1-5; Ewing, 1984:22-24, Fig.18; Domínguez-Castanedo et al., 2012, 2015

Rashgua near lobatus Green, 2002:309-310.

Rashgua lobatus García-Garza y de León-González, 2011:45-46.

Localidad tipo: Baja California, Isla Espíritu Santo, México.

Material examinado: (43 especímenes) Isla del Carmen, playa Bahamitas, Campeche, Est.3, [18°42'10.9"N, 091°41'89.9"W] (3), 03 enero 2011, (5), 07 junio 2011, (13), 08 junio 2011, (9), 09 junio 2011, 0.70 m; Puerto Real, Est.5, [18°42'17.2"N, 091°41'92.3"W] (13), 1.0 m, 05 enero 2011, col. MEGG y JHLD.

Distribución: Anfiamericana, EUA: Bahía de Mobile, Mississippi, Carolina del Norte y Norte del Golfo de México (Ewing, 1984a), Baja California (Hartman, 1947, 1969), Baja California Sur y Sonora (García-Garza y de León-González, 2011), Campeche, Veracruz (Domínguez-Castanedo et al., 2012, 2015).

***Eunice stigmatura* (Verrill, 1900)**

Leodice stigmatura Verrill, 1900:641-643; Treadwell, 1921:20-22, Figs. 31-40, pl. 1: Figs. 10-13.

Eunice vittata Hartman, 1942:9.

Eunice stigmatura Fauchald, 1992: 311–313, Figs. 106a-k.

Localidad tipo: Castle Harbour, Islas Bermudas (Verrill, 1900)

Material examinado: (6 especímenes) Isla del Carmen, playa Puerto Real, Campeche. Est. M-1 [18°45'49.8"N, 091°30'86.7], 0.1 m, 9 enero 2012, col. MEGG y JHLD.

Distribución: Atlántico occidental, Islas Bermudas (Verrill, 1900).

***Eunice unifrons* (Verrill, 1900)**

Leodice unifrons Verrill, 1900:644; Treadwell, 1921:17-20, Figs. 21-30, pl.1: Figs. 5-9.

Eunice vittata Hartman, 1942:9

Eunice unifrons Fauchald, 1992:330, Fig.113a-j, Tab. 41.42; Carrera-Parra y Salazar-Vallejo, 1997:1506, Fig.10g-j.

Localidad tipo: Islas Bermudas (Verrill, 1900).

Material examinado: (1 espécimen) Isla del Carmen, playa Puerto Real, Campeche, Est. M-1, [18°45'49.8"N, 091°30'86.7"], 0.1 m, 9 enero 2012, col. MEGG y JHLD.

Distribución: Atlántico occidental, Islas Bermudas (Verrill, 1900), Caribe mexicano (Carrera-Parra y Salazar-Vallejo, 1997).

***Marphysa brevitentaculata* Treadwell, 1921**

Marphysa brevitentaculata Treadwell, 1921:69-70, Figs. 235-243, Lám. 6, Figs. 13-14; Hartman, 1956:285-286; Carrera-Parra y Salazar-Vallejo, 1997: 1487, Figs. 3g-j, 4.

Localidad tipo: Scarborough, Trinidad y Tobago. (Treadwell, 1921).

Material examinado:(6 especímenes) Isla del Carmen, playa Puerto Real, Campeche. Est.1, [18°45'49.8"N, 091°30'86.7"], (4), 7 junio 2011; [18°45'49.8"N, 091°30'86.7"], (1), 9 enero 2012; [18°42'10.6"N, 091°41'10.6"], (1), 0.1 m, 11 enero 2012, col. MEGG y JHLD.

Distribución: Atlántico occidental, Scarborough, Trinidad y Tobago, (Treadwell, 1921), Quintana Roo (Carrera-Parra y Salazar -Vallejo, 1997).

***Marphysa orensanzi* Carrera-Parra y Salazar-Vallejo, 1998**

Marphysa orensanzi Carrera-Parra y Salazar-Vallejo 1998a:20-21, Fig. 6G-M

Localidad tipo: Cayo Valencia, Bahía Ascensión, Quintana Roo, México (Carrera-Parra y Salazar-Vallejo, 1998).

Material examinado: (4 especímenes) Isla del Carmen, playa Bahamitas, Campeche. Est. 4b, [18°42'31.5"N, 091°41'97.1"W], (3), 5 enero 2011; playa Puerto Real, [18°42'17.2"N, 091°41'90.6"W], (1), 0.70m, 09 enero 2012, col MEGG y JHLD.

Distribución: Atlántico occidental, Cayo Valencia, Bahía Ascensión, Quintana Roo (Carrera-Parra y Salazar-Vallejo, 1998).

***Glycera pacifica* Kinberg, 1866**

Glycera pacifica Kinberg, 1866:245; 1910:59; pl.21, Fig. 7b-c, f-g.

Localidad tipo: Islas de la Sociedad, Eimeo, Polinesia Francesa (Kinberg, 1866).

Material examinado: (1 espécimen) Isla del Carmen, playa Bahamitas [18°42'10.6"N, 091°41'90.6"W], 0.70m, 9 junio 2011, col MEGG y JHLD.

Distribución: Anfiamericana-Anfipacífica, Pacífico Noroeste, Noreste y parte central (Böggemann, 2002), Baja California Sur, Sonora, Sinaloa (Böggemann, 2002).

***Lumbrineris erecta* (Moore, 1904)**

Lumbriconeris erecta Moore, 1904:490-492, pl.37, Figs. 19-22, pl.38, Figs. 23-25; 1909: 254; Treadwell, 1914:196-197; Chamberlin, 1918:176; Hartman, 1942: 120-121, Fig. 11.

Lumbrineris erecta Hartman, 1944: 149-150.

Scoletoma erecta Dean, 1996a: 73.

Localidad tipo: San Diego, California, EUA. (Moore, 1904)

Material examinado: (33 especímenes) Isla del Carmen, playa Bahamitas, Campeche. Est. 4b, [18°42'31.5"N, 091°41'97.1"W], 0.70 m, 5 enero 2011, col. MEGG y JHLD.

Distribución: Anfiamericana, EUA, San Diego, California (Moore, 1904) sur de California, sur occidente de México (Hartman 1944); Costa Rica, Golfo de Nicoya (Dean, 1996a, 2004), Panamá (Fauchald 1977). Anteriormente esta especie ha sido observada en Tamiahua, norte de Veracruz (de León-González obs. per.)

***Perinereis mochimaensis* Liñero-Arana, 1983**

Perinereis mochimaensis Liñero-Arana 1983:4-5, Fig. 3a-f.

Localidad tipo: Isla Larga, Bahía de Mochima, Venezuela. (Liñero-Arana, 1983).

Material examinado: (1 espécimen) Isla del Carmen, playa Puerto Real, Campeche. [18°45'49.8"N, 091°30'86.7"W], 0.1 m, 09 enero 2012, col. MEGG y JHLD.

Distribución: Atlántico occidental, Venezuela, Bahía de Mochima (Liñero-Arana, 1983), Quintana Roo (Salazar-Vallejo y Jiménez-Cueto, 1997).

***Platynereis dumerilii* (Audouin y Milne Edwards, 1834)**

Nereis dumerilii: Audouin y Milne Edwards, 1834:196.

Platynereis dumerilii: McIntosh 1885:224, Lám. 35. Figs. 7-9. Lám. 16 A. Figs. 14-16; Pettibone, 1963:154, Fig. 43a-h; Day 1967: 306, Fig. 14.4 d-k; Gardiner, 1976:145, Figs. 14a-e; Fauchald, 1977:31, Fig. 4 d-f; Taylor, 1984:31.25, Fig. 31.22a-j; de León-González, 1997:223. Figs. 133 a-f; 134 a-b., Imajima, 2003: 23 1-121.

Localidad tipo: La Rochelle, Francia. (Audouin y Milne-Edwards, 1834).

Material examinado: (22 especímenes) Isla del Carmen, playa Puerto Real, Campeche. Est. 1, [18°45'49.8"N, 091°30'86.7"W] (19), 3 enero 2011; Est. 5, [18°42'17.2"N, 091°41'92.3"W], (1), 5 enero 2011; M-1, [18°45'49.8"N, 091°30'86.7"W], (2), 0.1 m, 9 enero 2012, col. MEGG y JHLD.

Distribución: Anfiamericana, Tamaulipas (Salazar-Vallejo, 1981), Veracruz (Reyes-Barrera y Salazar-Vallejo 1991; Sánchez-Wall, 1992), Quintana Roo (Jiménez-Cueto y Salazar-Vallejo, 1991; Jiménez-Cueto y Suárez-Morales 1992), Baja California Sur (Berkeley y Berkeley, 1958; Bastida-Zavala, 1991,1993,1995), Sonora (Kudenov, 1980).

***Naineris dendritica* (Kinberg, 1867)**

Naineris dendritica: Hartman, 1948b: 102-103; 1957:299-300, pl. 36, Figs. 1-3, pl.37, Figs. 1-7; 1969:25-26, Figs.7. Blake, 1975:207, Fig. 201. Taylor, 1984:1-12 to 1-14, Figs. 1-9 and 1-10. Blake, 1996:19, Fig. 1.7 A-I.

Localidad tipo: Isla de Vancouver, Canadá. (Kinberg, 1867).

Material examinado: (385 especímenes) Isla del Carmen, playa Puerto Real, Campeche. Est.1, [18°45'49.8"N, 091°30'86.7"W], (11), 3 enero 2011; Est. M-1, [18°45'49.8"N, 091°30'86.7"W]. (3), 0.1 m, 9 enero 2012; playa Bahamitas, Est.4, [18°42'10.6"N, 091°41'90.6"W]. (119), 4 enero 2011; Est. 4b, [18°42'31.5"N, 091°41'9097.1"W], (252), 0.70m, 5 enero 2011, col MEGG y JHLD.

Distribución: Anfiamericana, Pacífico desde Alaska hasta el sur de California, Golfo de México en el oeste de Florida (Blake, 1996), Baja California Norte, Isla Rasa (Salazar-Vallejo, 1990), Baja California Sur (Bastida-Zavala, 1995), Texas (Felder y Camp, 2010) . Este es el primer registro de la especie para el litoral mexicano en el Golfo de México.

***Pectinaria gouldii* (Verrill, 1873)**

Cistenides gouldii Verrill, 1873:612, pl.17, Fig. 87a; Whitlatch et al., 1982: 33-40.

Pectinaria gouldii Verrill, 1881:290; Long, 1973:865, Fig. 4a-g; Gordon, 1966:327-332; Busch et al., 1975:255-264;

Localidad tipo: Nueva Inglaterra, EUA. (Verrill, 1873)

Material examinado: (10 especímenes) Isla del Carmen, playa Bahamitas, Campeche. Est.2, [18°42'12.2''N, 091°41'89.5''W], (4), 03 enero 2011; Est. 3, [18°42'10.9''N, 091°41'89.9''W], (1), 03 enero 2011; Est. 7, [18°42'17.3N, 091°41'94.2''], (1), 6 enero 2011; (1), 7 junio 2011; (1), 8 junio 2011; (2), 0.70 m, 9 junio 2011, col MEGG y JHLD.

Distribución: Atlántico occidental, Nueva Inglaterra (Verrill, 1873), Costa este de América del Norte (Florida, Carolina del Norte), Bahía de Tampa Florida (Simon y Dauer, 1973), Bahía de Barnegat New Jersey (Busch y Loveland, 1975), Ocean Pound Fisher Island, New York (Whitlatch y Weinberg, 1982), Norte de Massachusetts (Gordon, 1996), Norte del Golfo de México (Long, 1973, Uebelacker 1984), Cuba (Ibarzabal, 1989). Esta especie se cita por primera vez para las costas mexicanas.

***Branchiomma bairdi* (McIntosh, 1885)**

Dasychone bairdi McIntosh, 1885: 495-497, pl. 30A, Figs. 13-15; pl. 39A, Figs. 2, 9; Monro, 1933: 267; Rioja, 1951: 513-516: pl. 1, Figs. 1-7; Rioja, 1958: 286-287.

Branchiomma bairdi Tovar-Hernández y Knight-Jones, 2006: 13-17, Figs. 3A-D, H-K, 9C-D, 10C, 11B; Tovar-Hernández et al., 2009:3-6, Figs. 2a-b, 3a-f, 4a-c.

Localidad tipo: Isla Bermuda, (McIntosh, 1885).

Material examinado: (1 espécimen) Isla del Carmen, playa Puerto Real, Campeche. Est. 3 [18°42'10.9''N, 091°41'89.9''W], 0.1m, 03 enero 2011, col. MEGG y JHLD.

Distribución: Cosmopolita, Bermudas, (McIntosh, 1885), Norte del Golfo de México Texas (Felder y Camp, 2010), Costa Atlántica de EUA en Florida, Dry Tortugas (Monro, 1933), En México Veracruz (Isla Sacrificios) (Rioja, 1951) (Isla Verde e Isla Santaiguillo) (Rioja, 1958), Yucatán (Celestún), Quintana Roo (Río Huach, Isla Contoy Holbox, San Felipe, Isla Mujeres, Cancún), Panamá (Colon), Antillas Holandesas (Curacao), Aruba, Territorio Británico de ultramar (Saint Thomas), Jamaica (Tovar-Hernández y Knight-Jones, 2006). Distribución invasora: Golfo de California y Sinaloa (Tovar-Hernández y Yáñez Rivera, 2012), Turquía (Cinar, 2009).

***Notaulax midoculi* (Hoagland, 1919)**

Parasabella midoculi Hoaglan, 1919: 579, pl. 31, Figs. 10-14, pl. 32, Figs. 1, 2.

Parasabella sulfúrea Treadwell, 1924a: 18 fide Perkins 1984: 343.

Hypsicomus midoculi Johansson, 1927: 141.

Notaulax midoculi Tovar-Hernández y Salazar-Vallejo, 2006:47-48

Localidad tipo: Loggerhead Key, Florida, EUA. (Hoagland, 1919).

Material examinado: (1 espécimen) Isla del Carmen, playa Puerto Real, Campeche. Est. 1, [18°45'49.8''N, 0.91°30'86.7''], 0.1m, 3 enero 2011, col. MEGG y JHLD.

Distribución: Atlántico occidental, EUA, Loggerhead Key, Florida. (Perkins, 1984), Caribe mexicano (Tovar-Hernández y Salazar -Vallejo, 2006).

***Ficopomatus miamiensis* (Treadwell, 1934)**

Sphaeropomatus miamiensis Treadwell, 1934:339-341, Figs. 1-5

Mercierellopsis prietoi Rioja 1945: 411-417.

Ficopomatus miamensis ten Hove y Weerdenburg, 1978:106-109, Figs. 1f-i, 3c, 5a-c. Bastida-Zavala y Salazar-Vallejo, 2000: 813-814, fig. 4i-s.

Localidad tipo: Río Miami, Florida, EUA (Treadwell, 1934).

Material examinado: (1 espécimen) Isla del Carmen, playa Bahamitas, Campeche, Est. 1, [18°42'10.9"N, 0.91°41'89.9"W], 0.70m, 3 enero 2011, col. MEGG y JHLD.

Distribución: Anfiamericana, EUA: Florida (Treadwell, 1934), Texas (Felder y Camp, 2009), Gran Caribe, Barbados, Belice, Curacao, EUA, Florida, Luisiana y Jamaica (ten Hove y Weerdenburg, 1978), Gran Caribe y Pacífico de Panamá, (Bastida-Zavala y Salazar-Vallejo, 2000), Tabasco y Veracruz (Rioja, 1945). Distribución como especie invasora: Sinaloa, Baja California Sur (Tovar-Hernández et al., 2012).

***Pseudopolydora floridensis* Delgado-Blas, 2008**

Pseudopolydora floridensis Delgado-Blas, 2008:14-16. Fig. 5A-L.

Localidad tipo: Lago Worth, Florida, EUA (Delgado-Blas, 2008).

Material examinado: (528 especímenes) Isla del Carmen, playa Puerto Real, Campeche, Est. 3, [18°42'10.6"N, 0.91°41'10.6"W], 0.1 m, 11 enero 2012, col. MEGG y JHLD.

Distribución: Atlántico occidental, EUA: Lago Worth, Florida (Delgado-Blas, 2008). Este sería el primer registro de la especie para los litorales mexicanos del golfo de México.

CONCLUSIONES

En el presente estudio se determinaron un total de 2,084 organismos de poliquetos, pertenecientes a 17 familias incluidas en 39 géneros y 49 especies, de las cuales y de acuerdo a los antecedentes, encontramos que solo 21 especies, de las reportadas por los distintos autores, coinciden con las examinadas en este trabajo, y las 16 especies restantes, se reportan como nuevos registros o se amplía el rango de distribución geográfica para esta zona.

La especie *Pseudopolydora floridensis* (Delgado-Blas, 2008) registrada para Lake Worth, Florida, se registra por primera vez para México, ampliando así su ámbito geográfico y las especies *Branchiomma bairdi*, *Ficopomatus miamiensis* y *Notaulax midoculi* son reportadas como especies invasivas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Arias, A., A. Giangrande, M.C. Gambi y N. Anadón. (2013). Biology and new records of the invasive species *Branchiomma bairdi* (Annelida: Sabellidae) in the Mediterranean Sea. *Mediterranean Marine Science*, 14, 162-171.
2. Bastida- Zavala J. R. (1991). Previous list of Polychaetes (Annelida: Polychaeta) from Cabo Pulmo Los Frailes reef, Baja California Sur, México. *Bulletin Marine Science*, 48, 584.
3. Bastida- Zavala, J. R. (1993). Taxonomía y composición biogeográfica de los poliquetos (Annelida: Polychaeta) de la Bahía de La Paz, B.C.S., México. *Revista de Investigación Científica*, 4, 11-39.

4. Bastida-Zavala, J.R. (1995). Poliquetos (Annelida: Polychaeta) del arrecife coralino de cabo Pulmo-Los Frailes, BCS, México. *Revista de Zoología*, 4, 1-16.
5. Bastida-Zavala, J.R. y Salazar-Vallejo S.I. (2000). Serpulidos (Polychaeta: Serpulidae) del Caribe-noroccidental con claves para la región del Gran Caribe: *Salamacina*, *Ficopomatus*, *Pomatoceros*, *Pomatostgus*, *Protula*, *Pseudovermilia*, *Spirobranchus* y *Vermiliopsis*. *Revista de Biología Tropical*, 48, 807-840.
6. Bellan, G. (2001). Polychaeta. En M. J. Costello, C. Emblow y R.J. White (Eds.), *European register of marine species: a check-list of the marine species in Europe and a bibliography of guides to their identification* (pp. 214-231). Collection Patrimoines Naturels. Muséum National d'Histoire Naturelle: Paris.
7. Berkeley, E. y C. Berkeley. (1941). On a collection of Polychaeta from southern California. *Bulletin Southern California Academy Science*, 40, 16-60.
8. Berkeley, E. y C. Berkeley. (1958). Some notes on a collection of Polychaeta from Pacific south of Latitude 32°N. *Canadian Journal Zoological*, 36, 399-407.
9. Blake, J.A. (1975). The larval development of Polychaeta from the northern California Coast III. Eighteen species of errantia. *Ophelia* 13, 43-61.
10. Blake, J.A. (1994). Introduction to Polychaeta. En Blake, J.A., B. Hilbig y P.H. Scott (Eds.), *Taxonomic Atlas of the Benthic Fauna of the Santa Maria Basin and Western Santa Barbara Channel. Volume 4 - The Annelida Part 1. Oligochaeta and Polychaeta: Phyllodocida (Phyllodocidae to Paralacydoniidae)* (pp. 1-369). Museum of Natural History. Santa Barbara, California.
11. Blake, J.A. (1996). Chapter 1. Family Orbiniidae Hartman, 1942. En Blake JA, Hilbig B, y Scott P.H. (Eds.), *Taxonomic atlas of the Santa Maria Basin Western Santa Barbara Channel. Vol 6. Annelida part 3. Polychaeta: Orbiniidae to Cossuridae* (pp. 1-26). Museum of Natural History. Santa Barbara, California.
12. Blake, J.A. y Walton, C. P. (1977). New species and records of Polychaeta from the Gulf of the Farallones, California. En Reish, D. J. y Fauchald, K. (Eds.), *Essays on Polychaetous Annelids in Memory of Dr. Olga Hartman* (pp. 310-311). The Allan Hancock Foundation, University of Southern California, Los Angeles.
13. Böggemann, M. (2002). Revision of the Glyceridae Grube 1859 (Annelida: Polychaeta). *Abhandlungen der Senckenbergischen naturforschenden Gesellschaft* 555,1-249.
14. Chamberlin,R.V. 1919a.New polychaetous annelids from Laguna Beach, California.*Journal of Entomology and Zoology*, 11 (1); 1-23; Claremont, California.
15. Capa, M. & López, E., 2004.Sabellidae (Annelida: Polychaeta) living in blocks of dead coral in the Coiba NationalPark, Panama. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 84, 63–72.
16. Carrera-Parra, L.F. & Salazar-Vallejo, S.I. 1997. Eunícidos (Polychaeta) del Caribe mexicano con claves para las especies del Gran Caribe: *Eunice*. *Rev.Biol.Trop.*45 (4):1499-1521.
17. Carrera-Parra, L.F. & Salazar-Vallejo, S.I. 1998.A New Genus and 12 new species of Eunicidae (Polychaeta) from the Caribbean Sea. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, 78, 145-182.
18. Carrera-Parra, L. F. 2001. Lumbrineridae (Annelida: Polychaeta) from the Grand Caribbean región with the decription of six new species. *Journal of the Marine Biological of the United Kingdom* (2001), 81, 599-621.

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE FRIJOL AYOCOTE (*PHASEOLUS COCCINEUS L.*) SOMETIDO A TRATAMIENTO TÉRMICO

Alejandra N. Alvarado-López, L. Xochitl López-Martínez

Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México. Paseos Colón y Tolloca. 50000. Toluca, Estado de México, México.
CONACyT-Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Carr. a El Dorado Km 5.5. 80110. Culiacán, Sinaloa, México.

RESUMEN

Los efectos fisiológicos del consumo de frijol se han atribuido a la presencia de fitoquímicos, que poseen propiedades anticancerígenas y antioxidantes. En general se considera que los antioxidantes eliminan los radicales libres y especies reactivas de oxígeno y están relacionados en la inhibición de mecanismos oxidativos que conducen a enfermedades degenerativas como diabetes. Su consumo como parte de la dieta de la población mexicana puede ser efectivo en la prevención o disminución de los niveles de glucosa en la diabetes mellitus. Por tanto, el objetivo de este estudio fue caracterizar el contenido de compuestos fenólicos totales (CFT), flavonoides y la capacidad antioxidante de frijol ayocote negro (*Phaseolus coccineus L.*) y sus productos de tratamiento térmico. A partir de ayocote se prepararon extractos de frijol crudo y como productos de tratamiento térmico a presión (15lb, 120°C, 30 min) y en olla convencional (presión atmosférica, 96°C, 150 min) se obtuvo extractos de grano cocido y agua de cocción; las variables de respuesta fueron CFT por el método de Folin-Ciocalteu, flavonoides (Chang, 2002), antocianinas y capacidad antioxidante por el método ORAC. Se realizó un diseño de bloques completamente al azar, los resultados se analizaron mediante un ANOVA y diferencias de medias por Tukey ($p < 0.05$). El contenido de CFT para el frijol crudo se encontró de 167.07 mg EAG·100g⁻¹, después del tratamiento térmico se observó una disminución de los compuestos del 80% en presión y en convencional del 71%. El contenido mayor de flavonoides se presentó en el tratamiento a presión 14.71 mg EQ·100g⁻¹. La capacidad para inhibir especies reactivas de oxígeno (ORAC) se conservó mejor en el agua de cocción del tratamiento convencional que en el grano cocido siendo de 827 y 272 $\mu\text{mol TE}\cdot 100\text{g}^{-1}$ respectivamente. La actividad antioxidante está directamente relacionada con el contenido de CFT. El tratamiento térmico disminuye los compuestos bioactivos, sin embargo los que se conservan contribuyen a la actividad antioxidante del frijol por lo que una dieta rica leguminosas podría representar beneficios a la salud del humano.

INTRODUCCIÓN

El frijol (*Phaseolus*) es la leguminosa más producida y consumida en el mundo, en México junto con el maíz son de importancia nutricia y económica. El frijol común (*Phaseolus vulgaris L.*) es bajo en grasa y rico en proteínas, vitaminas, carbohidratos complejos y minerales (16); después del frijol común, el frijol ayocote (*Phaseolus coccineus L.*) es la segunda especie de mayor importancia para la alimentación de los mexicanos se caracteriza por ser de mayor tamaño, rico en triptofano y con gran potencial de uso y aprovechamiento con fines alimenticios para la población mediante el uso de su follaje, flores, vainas y semillas (10), sin embargo al ser un cultivo de asociación con el maíz poco se sabe de su actividad biológica (18).

Además de contribuir con las necesidades nutricionales, el consumo de frijoles como alimentos funcionales se ha relacionado con la reducción del riesgo de enfermedades del corazón (12), obesidad (20), diabetes (3) y cáncer (1). Los efectos protectores de los frijoles en la prevención de enfermedades crónicas degenerativas están asociados a compuestos de naturaleza fenólica. Los polifenoles de frijoles pueden actuar como antioxidantes, obstaculizando la formación de radicales libres que eventualmente conducen al deterioro de moléculas biológicas (13). Estos compuestos fenólicos, glucosidos de flavonol, antocianinas y taninos condensados (proantocianidinas) se localizan principalmente en la testa y en menor cantidad en los cotiledones de la semilla, poseen actividades antimutagénicas y antioxidantes (19) y además determinan el color de las diferentes variedades de frijol (5). A pesar de los beneficios del consumo de frijol, se han encontrado desventajas relacionadas con la presencia de factores antinutricios, que alteran el aprovechamiento de nutrientes, como inhibidores de hemaglutininas (lectinas), ácido fítico y taninos por ello el tratamiento térmico de cocción aplicado

a las leguminosas es necesario para reducir los compuestos antinutricios, mejorar la digestibilidad de proteínas y almidón y originar las propiedades sensitivas deseables en frijoles tales como sabor dulce, textura y palatabilidad (14). Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue caracterizar el contenido de compuestos fenólicos totales (CFT), flavonoides, antocianinas y la capacidad antioxidante de ayocote (*Phaseolus coccineus* L.) negro y sus productos de tratamiento térmico.

PARTE EXPERIMENTAL

Obtención de la muestra

Se obtuvo frijol ayocote negro del mercado local del Estado de México, previo a su procesamiento los ayocotes fueron lavados para eliminar tierra o granos dañados, posteriormente se molieron (Krupstyppe F408, México) hasta obtener una harina fina y se almacenó a 4 °C hasta su utilización.

Procesamiento térmico

1) Cocción en agua hirviendo

La cocción o hervido a presión atmosférica del frijol ayocote se realizó de acuerdo a la receta tradicional mexicana con ligeras modificaciones, se colocó el grano hidratado en una olla con 2 L de agua hirviendo durante 150 min.

2) Cocción en agua hirviendo a presión controlada (15 lb)

Los granos de ayocote hidratados se colocaron en una olla de presión con 725 mL de agua hirviendo durante 30 min, este tiempo inició desde que el vapor salió por el regulador de presión.

Una vez transcurrido el tiempo de cocción, los granos de ayocote fueron drenados y enfriados a temperatura ambiente durante 1 h, posteriormente fueron molidos. Los productos de tratamiento térmico (grano y agua de cocción) se almacenaron por separado en refrigeración a 4 °C por no más de 4 días hasta su posterior análisis.

Obtención de extractos acuosos

2.5 g de harina de frijol ayocote, así como los productos del tratamiento térmico (grano y agua de cocción) fueron extraídos con 10 mL de agua destilada por 120 min a 200 rpm a temperatura ambiente (HAG, FINEPCR, Korea). Las muestras se centrifugaron a 10 000 rpm durante 15 min a 4 °C (Sorvall Legend XTR, Thermo Scientific, Alemania), se retiró el sobrenadante y se almacenó en refrigeración hasta su análisis.

Determinación de compuestos fenólicos totales

El contenido de compuestos fenólicos totales de los extractos acuosos de frijol fue determinado por el método de Gao *et al.* (2002) con ligeras modificaciones. 15 µL de los extractos acuosos se colocaron en una placa (Costar™, EEUU) y fueron diluidos en 240 µL de agua destilada, se adicionaron 15 µL del reactivo de Folín-Ciocalteu (2N), se mezclaron y reposaron por 3 minutos a 25 °C, posteriormente se adicionó 30 µL de Na₂CO₃ (4N) y la mezcla reposó durante 120 minutos en la oscuridad, después de ese tiempo se determinó la absorbancia a 725 nm utilizando un lector de microplatos (Synergy HT, BioTek™, Inc, EEUU). Los compuestos fenólicos totales fueron expresados como mg de ácido gálico/100 g de muestra ($y=4.3x+0.055$, $R^2 = 0.99$).

Determinación de flavonoides

El contenido total de flavonoides fue analizado acorde al método de Chang *et al.* (2002). 20 µL de cada uno de los extractos se depositaron en una placa (Costar™, EEUU) y se diluyeron con 112 µL de agua y 60 µL de metanol al 80%. Posteriormente se colocaron 4 µL de cloruro de aluminio al 10% y 4 µL de acetato de potasio 1M. Las muestras se incubaron por 30 min y se determinó la absorbancia a una longitud de onda a 415 nm en un lector de microplacas (Synergy HT, BioTek™, Inc, EEUU), el contenido de flavonoides se expresó como mg equivalentes de quercetina/100g ($y=1.84x + 0.075$, $R^2=0.99$).

Determinación de antocianinas

Las antocianinas fueron determinadas usando el método de Abdel-Aaal y Hucl (1999). 3 g de la muestra fueron diluidos con 10 mL de una disolución etanólica acidificada fría (4 °C) con agitación constante por 30 min; posteriormente, los extractos fueron centrifugados a 10 000 rpm durante 15 minutos y se removió el sobrenadante, la absorbancia se determinó a 535 nm utilizando un lector de microplatos (Synergy HT, BioTek™, Inc, EEUU). Las antocianinas totales fueron calculadas usando la fórmula 1 y se expresaron como mg de cianidina 3-glucósido/100g de harina de frijol.

$$C = [(Abs_{535} - Abs_{700})/\epsilon] \times (VT) \times MW \times (1/\text{peso de la muestra})$$

Capacidad Antioxidante (Método ORAC)

La capacidad de los extractos para absorber especies reactivas de oxígeno fue determinada por el método de Huang *et al.* (2002). Se realizaron diluciones de los extractos (10:1990 µL, v/v) con amortiguador de fosfatos 75 mM (pH 7.4). Alícuotas de 25 µL de la muestra, amortiguador de fosfatos como blanco 25 µL y 25 µL de una curva estándar de trolox 400 µM fueron colocadas en una microplaca de paredes oscuras y fondo claro. El lector de microplacas (Synergy HT, BioTek™, Inc, EEUU) fue programado para dispensar 200 µL de fluoresceína 0.96 µM y 75 µL del radical libre 2,2-azobis,2-amidino-propano dihidrocloro (AAPH) 95.8 µM, iniciando la reacción una vez adicionado este último reactivo, midiendo la fluorescencia por 70 min con intervalos de 70 seg a una longitud de onda para excitación de 485 nm y para emisión de 580 nm. El efecto protector de las muestras se calculó restando el área integrada neta bajo la curva del control y la zona bajo la curva de la muestra [AUC_{simple} - AUC_{control}]. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de Trolox por g de peso seco (mg TEg-1).

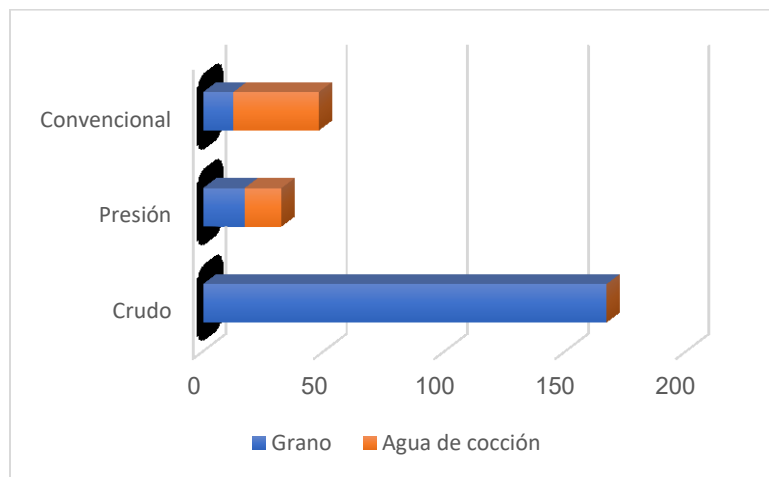
Análisis Estadístico

Se realizó un diseño completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento, los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza y de comparación de medias con la prueba de Tukey (p≤0.05).

RESULTADOS

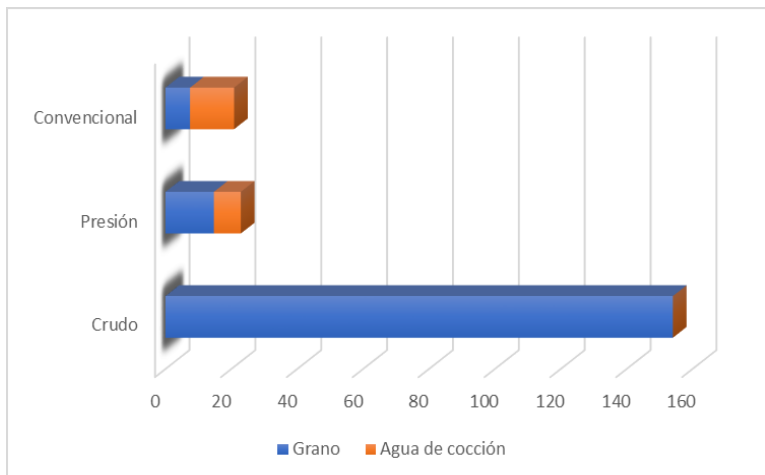
Efecto de la cocción sobre el contenido de compuestos fenólicos totales, flavonoides y antocianinas

El contenido de compuestos fenólicos totales se determinó en la harina y en los productos de tratamiento térmico (grano y agua de cocción) de frijol ayocote negro (gráfica 1). El mayor contenido se tiene en el grano crudo 167.07 mg GAE·100g⁻¹ y se observa una disminución del 80 y 71% después del tratamiento térmico a presión controlada y convencional respectivamente, estos resultados son menores a lo reportado por Espinosa-Alonso en 2006 para la variedad negro Jamapa siendo de 198 mg GAE·100g⁻¹. En 2009 Galvéz y col. también observaron una reducción del 70% en grano después del tratamiento térmico y la aparición de CFT en el agua de cocción, lo que demuestra que temperaturas elevadas cambian la solubilidad de los compuestos fenólicos haciendo que se depositen en el agua de cocción.



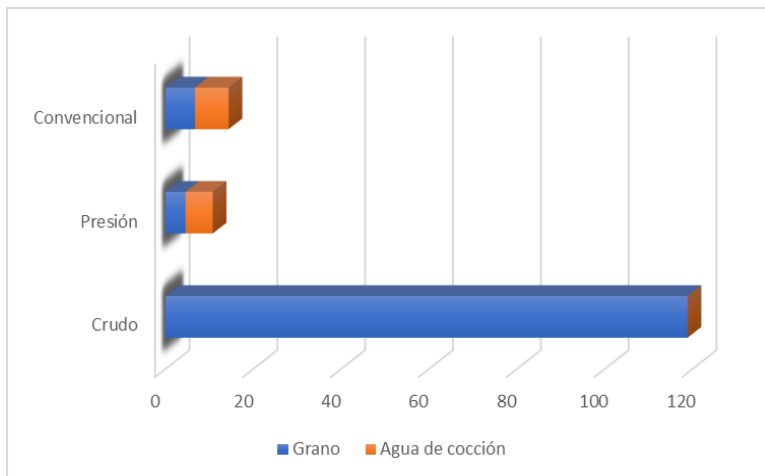
Gráfica 1. Contenido de compuestos fenólicos totales (mg GAE·100g⁻¹) en ayocote después del tratamiento térmico

De acuerdo con la gráfica 2, existe menor pérdida de flavonoides en el grano resultante de la cocción a presión controlada (9.5%) y mayor contenido en el agua de cocción del tratamiento convencional (13.36 mg QE·100g⁻¹), este comportamiento puede deberse a la temperatura y el tiempo de cocción, así como a la consecuente liberación de los flavonoides desde la matriz celular. De acuerdo con Bunea y col. el aumento de las concentraciones de ciertos compuestos después del tratamiento térmico puede ser explicado por la lixiviación de los mismos hacia el agua de cocción o bien a la estabilidad térmica de los compuestos.



Gráfica 2. Contenido de flavonoides (mg QE · 100g⁻¹) en ayocote después del tratamiento térmico

Para el frijol crudo el valor de antocianinas totales fue de 118.88 mg cianidina-3-glucósido · 100g⁻¹ de harina, después del tratamiento térmico a presión y convencional se observó una disminución significativa hasta de 4.59 y 6.74 mg respectivamente. Los resultados obtenidos en ayocote negro fueron menores a los reportados por Takeoka y col. para otros cultivares negros mexicanos (0.37-0.71 mg · g⁻¹). Sadiloba y col. han informado que altas temperaturas durante un periodo de tiempo induce una destrucción logarítmica de las antocianinas ya que la estructura de la antocianina se abre para formar chalconas, que se degradan adicionalmente en productos marrones.



Gráfica 3. Contenido de antocianinas (mg cianidina-3-glucósido · 100g⁻¹) en ayocote después del tratamiento térmico

Actividad antioxidante ORAC

La capacidad para inhibir especies reactivas de oxígeno se realizó por el método ORAC que se basa en el mecanismo de transferencia de átomos de hidrógeno, contrario al mecanismo de transferencia de electrones en el que se basa el método DPPH-. La mayor actividad se encontró para el ayocote crudo (tabla 1), sin embargo tanto los productos de la cocción a presión y convencional mantienen actividad antioxidante (26 y 36% respectivamente) la cual está relacionada directamente con el contenido de compuestos fenólicos totales (r=0.88) quienes pudieron haber actuado como donadores de átomos de hidrógeno, otras investigaciones mostraron que el procesamiento térmico de tomates (Dewanto y otros 2002a) y maíz (Dewanto y otros 2002b) dan lugar a un aumento de las actividades antioxidantes debido al aumento de la liberación de compuestos fenólicos, por el contrario Xu y col. sugieren que durante la cocción a altas temperaturas pueden originarse productos de la

reacción de Maillard los cuales se saben poseen propiedades antioxidantes pudiendo contribuir con la actividad antioxidante.

Tabla 1. Actividad antioxidante de ayocote después del tratamiento térmico

ORAC	($\mu\text{mol TE}/100\text{g}$)
Crudo	3694.22 \pm 461.2 c
Grano Presión	442.18 \pm 63.1 a,b
Grano Convencional	272.04 \pm 36.2 a
Agua de cocción presión	530.5 \pm 37.7 a,b
Agua de cocción convencional	826.93 \pm 40 b

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que los compuestos fenólicos, flavonoides y antocianinas de frijol ayocote dependen del proceso de cocción. El tratamiento térmico disminuye las concentraciones de bioactivos, sin embargo la capacidad antioxidante se mantiene en los productos como grano y agua de cocción por lo que su consumo puede generar beneficios a la salud de los humanos.

Los análisis de correlación mostraron que la presencia de fitoquímicos se relacionan positivamente con la actividad antioxidante de los productos del tratamiento térmico, sin embargo se necesitan más investigaciones para caracterizar los componentes antioxidantes individuales en el ayocote negro.

Además de proporcionar proteínas y fibra dietética, el frijol ayocote puede servir como excelente fuente de antioxidantes, y pueden ser utilizados como ingredientes funcionales para el procesamiento de nutraceuticos y alimentos saludables en la industria alimentaria.

BIBLIOGRAFÍA

1. Azevedo, J.C. Gomes, P.C. Stringheta, A.M.C. Gontijo, C. Padovani & L.R.Z. Riberio "Black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as a protective agent against DNA damage in mice", Food and Chemical Toxicology, Vol. 41, 2003, pp. 1671-1676.
2. Bunea, M. Andjelkovic, C. Socaciu, O. Bobis, M. Neacsu, R. Verhe & J. Van Camp "Total and individual carotenoids and phenolic acids contents in fresh, refrigerated and processed spinach (*Spinacia oleracea* L.)" Journal of Food Chemistry, Vol. 108, 2008, pp. 649-656.
3. A.S.M. Golam, L. Khandaker, J. Berthold, L. Gates, K. Peters, H. Delong & K. Hossain "Anthocyanin, total polyphenols and antioxidant activity of common bean", American Journal of Food Technology, Vol. 6, 5, 201, pp. 385-394.
4. B.J. Xu & K.C. Chang "Total phenolic content and antioxidant properties of Eclipse Black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by processing methods", Journal of Food Science, Vol. 73, 2, 2008, pp. 19-27.
5. Beninger & G. Hosfiel "Antioxidant activity of extracts, condensed tannin fractions, and pure flavonoids from *Phaseolus vulgaris* L. seed coat color genotypes", Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 51, 2003, pp. 7879-7883.
6. C.C. Chang, M.H. Yang, H.M. Wen & J.C. Chern "Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods", Journal of Food and Drug Analysis, Vol. 10, 2002, pp. 178-182.
7. C.R. Takeoka, L.T. Dao, G.H. Full, R.Y. Wong, L.A. Harden, R.H. Edwards & J.D.J. Berrios "Characterization of black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) anthocyanins", Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 45, 1997, pp. 3395-3400.D.
8. E. Sadilova, F.C. Stintzing & R. Carle "Thermal degradation of acylated and nonacylated anthocyanins", Journal of Food Science, Vol. 71, 2006, pp. 504C-512C.
9. Huang, B. Ou, M. Hampsch-Woodill, J. Flanagan & R. Prior "High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with the microplate fluorescence reader in 96-well format", Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 50, 2002, pp. 4437-4444.

10. F. Basurto, D. Martínez, A. Castellanos & M.A. Martínez "Ciclo agrícola y fenología de *Phaseolus coccineus* L. en sistemas de agricultura tradicional en la Sierra Norte de Puebla, México", *Etnoecológica*, Vol. 3, 1996, pp. 71-81.
11. G. Espinosa-Alonso, A. Lygin, J.M. Widholm, M.E. Valverde & O. Paredes-Lopez "Polyphenols in wild and weedy Mexican common beans (*Phaseolus vulgaris* L.)", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 54, 2006, pp. 4436-4444.
12. J.W. Anderson, L. Story, B. Sieling, W.J.L. Chen, M.S. Petro & J. Story "Hypocholesterolemic effects of oat-bran or bean intake for hypercholesterolemic men", *American Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 48, 1984, pp. 749-753.
13. J. Boateng, M. Verghese, L.T. Walker & S. Ogutu "Effect of processing on antioxidant contents in selected dry beans (*Phaseolus spp.* L.)", *LWT-Food Science and Technology*, Vol. 41, 9, 2008, pp.1541-1547.

PECES VICARIOS DEL SISTEMA LAGUNAR POTOSÍ GRO. MÉXICO (2012)

Estefany Carranza Burgos, Catalina Machuca Rodríguez y Ernesto Mendoza Vallejo

Laboratorio de Sistemática de peces costeros.FES Zaragoza, UNAM.

RESUMEN

Los listados taxonómicos representan el sustento taxonómico inicial de estudios ecológicos, sistemáticos, ambientales y biogeográficos, así como en la administración de los recursos pesqueros en explotación o potenciales a nivel nacional. Derivado de la pesca exploratoria efectuada en el año 2012, se presenta el elenco sistemático parcial de las especies ícticas recolectadas en el sistema lagunar costero Potosí. El material biológico proviene de muestreos trimensuales realizados con redes del tipo atarraya de 2 pulgadas de abertura de malla. El elenco se complementa con aspectos ecológicos, taxonómicos y biogeográficos. Aun cuando se adolece del conocimiento local (sistema lagunar Potosí) de estas especies y su biología, muchas de ellas son objeto de explotación pesquera. Como resultado se determinó un total de 39 especies distribuidas en 33 géneros y 22 familias pertenecientes a la División Teleostei y a la Subdivisión Teleostei. El Orden Perciformes (12 familias) es el mejor representado. Las familias con mayor número de especies son Carangidae (7), Gerreidae (5), Clupeidae (3), Haemulidae (3) y Lutjanidae (2). Las especies con mayor abundancia en individuos son *Diapterus brevirostris* (22%), *Lutjanus argentiventris* (20%), *Oligoplites refulgens* (17%) y *Mugil curema* (10%). En cuanto a la distribución geográfica de las especies descritas 28 son exclusivas del Pacífico oriental (72%); 3 especies son Anfipacíficas (8%); 4 especies son de distribución anfiamericana (10%); 2 especies son cosmopolitas (5%); 1 especie es considerada como anfiamericana y anfiatlántica (3%) y 1 endémica del trópico mexicano (3%).

INTRODUCCIÓN

Los listados taxonómicos son considerados internacionalmente como información biológica con contenido evolutivo y que responde a la actual crisis de la biodiversidad, así como a la necesidad regional y mundial de un mayor conocimiento científico en los diferentes niveles de complejidad biológica en las áreas de la sistemática, ecología, biogeografía, biología e impacto ambiental, entre otros. Por lo que representan la base para estudios de manejo sustentable de los recursos bióticos, además de contribuir en las políticas ambientales nacionales e internacionales, así como en la formación de las bases para la educación ambiental y ética. Siendo en el ambiente de las comunidades ícticas una herramienta esencial en la administración de los recursos pesqueros en explotación o potenciales a nivel nacional, el presente trabajo tiene por objeto de estudio la elaboración de un listado taxonómico parcial de las especies de peces del sistema lagunar costero Potosí, derivadas de la pesca exploratoria efectuada en el año 2012.

TEORÍA

Una proporción considerable de especies ícticas marinas mantienen una relación estrecha en su ciclo de vida con los ambientes costeros: estuarios, bahías y lagunas costeras. Por ello, dichos ambientes constituyen por su origen y dinámica áreas de protección, alimentación y alevinaje, sobre todo en la etapa juvenil y larval de muchas de estas especies. Complementariamente los adultos incursionan en estos sistemas salobres fundamentalmente con fines de alimentación. La limitante física del por qué son solamente algunas especies de peces las que penetran a los estuarios es debida a las grandes fluctuaciones en la dinámica hidrológica y química de estos sistemas, sin embargo la abundancia de nutrientes derivada principalmente de la descarga de los ríos, así como la degradación de grandes cantidades de materia orgánica derivada, en el caso de estuarios tropicales, de la vegetación de manglar. Cabe destacar que esta productividad se pone de manifiesto cuando se cita que gran proporción de la pesca nacional se sustenta en la pesca artesanal que se realiza a nivel local en las lagunas costeras. Sin embargo, a pesar de este gran potencial pesquero poco se sabe acerca de la composición de las especies de peces sean o no comerciales en los niveles de localidad, y menos aún acerca de su biología.

PARTE EXPERIMENTAL

El material biológico proviene de muestreos trimensuales efectuados en el sistema lagunar Potosí, Guerrero, a lo largo de un ciclo anual en el año 2012. Los peces fueron inyectados con formalina al 15% para su fijación. Posteriormente, ya en el laboratorio se lavaron al chorro de agua para eliminar la formalina y para su conservación se colocaron en alcohol etílico al 40%. Se realizó la determinación taxonómica con la Guía de la F.A.O. (1995) de las especies del Pacífico Central-Oriental y Castro-Aguirre, (1999), claves específicas para familias. Para la elaboración del listado taxonómico final se siguió el criterio de la sistemática de Nelson (2016). Finalmente se documenta dicho listado con aspectos ecológicos, taxonómicos y biogeográficos de cada una de las especies.

RESULTADOS

El listado está constituido por 39 especies repartidas en 33 géneros y 22 familias (Tabla 1) pertenecientes a la Clase Osteichthyes de la División Teleosteoromorpha y subdivisión Teleostei. Incluye 10 Ordenes; Elopiformes (1 familia), Albuliformes (2), Clupeiformes (2) Gonorynchiformes (1), Aulopiformes (1), Mugiliformes (1), Beloniformes (1), Pleuronectiformes (1), Tetraodontiformes (1) y Perciformes (12). El número de especies por familia son Carangidae (7), Gerreidae (5), Clupeidae (3), Haemulidae (3), Lutjanidae (2); Elopidae, Albulidae, Chanidae, Hemiramphidae, Centropomidae, Nematistiidae, Polynemidae, Chaetodontidae, Pomacentridae, Gobiidae, Acanthuridae, Sphyrnidae, Paralichthyidae y Tetraodontidae están representadas por una especie. La abundancia del número de individuos por especie son *Diapterus brevirostris* (22%), *Lutjanus argentiventris* (20%), *Oligoplites refulgens* (17%) y *Mugil curema* (10%). En cuanto a la distribución geográfica de las especies descritas 28 son exclusivas del Pacífico oriental (72%); 3 especies son Anfipacíficas (8%); 4 especies son de distribución anfiamericana (10%); 2 especies son cosmopolitas (5%); 1 especie es considerada como anfiamericana y anfiatlántica (3%) y 1 (3%) endémica del trópico mexicano (Tabla 2).

Tabla 1. **Listado taxonómico** (Nelson, 2016), y distribución geográfica para cada especie: A= Exclusiva del Pacífico Oriental, B= Endémica del trópico mexicano, C= Anfipacífica, D= Cosmopolita, E= Anfiamericana y Anfiatlántica, F= Anfiamericana.

Phylum	Chordata
Subphylum	Craniata
Infraphylum	Vertebrata
Grado	Teleostomi
Clase	Osteichthyes
Subclase	Actinopterygii
Infraclase	Holostei
División	Teleosteoromorpha
Subdivisión	Teleostei
Supercohorta	Teleocephala
Cohorte	Elopomorpha
Orden	Elopiformes
Familia	Elopidae
Especie	^A <i>Elops affinis</i> Regan, 1909
Orden	Albuliformes
Suborden	Albuloidei
Familia	Albulidae
Subfamilia	Albulinae
Especie	^F <i>Albula vulpes</i> (Linnaeus, 1758)
Cohorte	Otocephala
Superorden	Clupeomorpha
Orden	Clupeiformes
Suborden	Clupeoidei
Familia	Engraulidae
Subfamilia	Engraulinae
Especie	^A <i>Anchovia macrolepidota</i> (Kner, 1863)
Especie	^A <i>Anchoa nasus</i> (Kner y Steindachner, 1867)
Familia	Clupeidae

Subfamilia	Clupeinae
Especie	^A <i>Lile stolifera</i> (Jordan y Gilbert, 1882)
Especie	^A <i>Opistonema libertate</i> (Günther, 1867)
Subfamilia	Dorosomatinae
Especie	^B <i>Dorosoma smithi</i> Hubbs y Miller, 1941
Superorden	Ostariophysii
Orden	Gonorynchiformes
Series	Anotophysii
Suborden	Chanoidei
Familia	Chanidae
Subfamilia	Chaninae
Especie	^C <i>Chanos chanos</i> (Forsskål, 1775)
Cohorte	Euteleostei
Superorden	Cyclosquamata
Orden	Aulopiformes
Suborden	Synodontoidei
Familia	Synodontidae
Subfamilia	Synodontinae
Especie	^A <i>Synodus scituliceps</i> Jordan y Gilbert, 1882
Superorden	Acanthopterygii
Series	Percomorpha
Subseries	Ovalentaria
Orden	Mugiliformes
Familia	Mugilidae
Especie	^D <i>Mugil cephalus</i> Linnaeus, 1758
Especie	^E <i>Mugil curema</i> Valenciennes, 1836
Orden	Beloniformes
Suborden	Belonoidei
Familia	Hemiramphidae
Subfamilia	Hemiramphinae
Especie	^F <i>Hyporhamphus unifasciatus</i> (Ranzani, 1841)
Orden	Perciformes
Suborden	Percoidei
Superfamilia	Percoidea
Familia	Centropomidae
Especie	^A <i>Centropomus robalito</i> Jordan y Gilbert, 1882
Familia	Nematistiidae
Especie	^A <i>Nematistius pectoralis</i> Gill, 1862
Familia	Carangidae
Subfamilia	Trachinotinae
Especie	^A <i>Trachinotus rhodopus</i> Gill, 1863
Subfamilia	Scomberoidinae
Especie	^A <i>Oligoplites refulgens</i> Gilbert y Starks, 1904
Especie	^F <i>Oligoplites saurus</i> (Bloch y Schneider, 1801)
Subfamilia	Caranginae
Especie	^D <i>Caranx caninus</i> Günther, 1867
Especie	^C <i>Caranx sexfasciatus</i> Quoy y Gaimard, 1825
Especie	^A <i>Chloroscombrus orqueta</i> Jordan & Gilbert, 1883
Especie	^A <i>Selene brevoortii</i> (Gill, 1863)
Familia	Lutjanidae
Subfamilia	Lutjaninae
Especie	^A <i>Lutjanus novemfasciatus</i> Gill, 1862
Especie	^A <i>Lutjanus argentiventris</i> (Peters, 1869)
Familia	Gerreidae
Especie	^A <i>Diapterus aureolus</i> (Jordan y Gilbert, 1882)
Especie	^A <i>Diapterus brevirostris</i> (Sauvage, 1879)

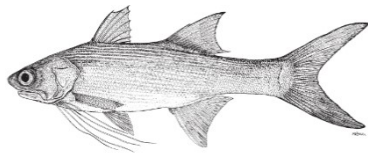
Especie	^A <i>Eucinostomus currani</i> (Zahuranec, 1980)
Especie	^A <i>Eugerres axillaris</i> (Günther, 1864)
Especie	^F <i>Gerres cinereus</i> (Walbaum, 1792)
Familia	Haemulidae
Especie	^A <i>Haemulopsis axillaris</i> (Steindachner, 1869)
Especie	^A <i>Haemulopsis leuciscus</i> (Günther, 1864)
Especie	^A <i>Pomadasys branickii</i> (Steindachner, 1879)
Familia	Polynemidae
Especie	^A <i>Polydactylus approximans</i> (Lay y Bennett, 1839)
Familia	Chaetodontidae
Especie	^A <i>Chaetodon humeralis</i> Günther, 1860
Subfamilia	Pomacentridae
Especie	Pomacentrinae
Suborden	^A <i>Abudefduf troscheli</i> (Gill, 1862)
Familia	Gobioidei
Subfamilia	Gobiidae
Especie	Gobionellinae
Suborden	^A <i>Gobionellus microdon</i> (Gilbert, 1892)
Familia	Acanthuroidei
Subfamilia	Acanthuridae
Tribu	Acanthurinae
Especie	Acanthurini
Suborden	^C <i>Acanthurus xanthopterus</i> Valenciennes, 1835
Familia	Scombroidei
Especie	Sphyraenidae
Orden	^A <i>Sphyraena ensis</i> Jordan y Gilbert, 1882
Familia	Pleuronectiformes
Especie	Paralichthyidae
Orden	^A <i>Citharichthys gilberti</i> Jenkins y Evermann, 1889
Suborden	Tetraodontiformes
Familia	Tetraodontoidei
Subfamilia	Tetraodontidae
Especie	Tetraodontinae
	^A <i>Sphoeroides annulatus</i> (Jenyns, 1842)

CONJUNTO BIOGEOGRÁFICO	ESPECIES	%
A. Exclusiva del Pacífico oriental	28	72%
B. Endémica del trópico mexicano	1	3%
C. Anfipacífica	3	8%
D. Cosmopolita	2	5%
E. Anfiamericana y Anfiatlántica	1	3%
F. Anfiamericana	4	10%
TOTAL	39	100%

Tabla 2. Representación de la distribución geográfica.

Complementariamente, el listado taxonómico se acompaña de una descripción taxonómica, biogeográfica y ecológica, derivadas de diversas revisiones bibliográficas, así como datos de las condiciones ambientales presentes al momento de la recolecta. A continuación se muestra una de las fichas que contiene la descripción de la Familia y la(s) especie(s) que la constituye(n)

POLYNEMIDAE



Cuerpo alargado y comprimido. Hocico prominente, algo translucido, prolongado por delante de la boca; boca de tamaño mediano, subterminal; extremo posterior del maxilar extendido por debajo del ojo, mucho más allá del borde posterior del ojo; dientes viliformes; ojos bastante grandes, con un parpado adiposo. Dos aletas dorsales bien separadas, la primera con VIII espinas y la segunda con I espina y 11 a 14 radios blandos; segunda aleta dorsal y aleta anal densamente escamosa; aletas pectorales divididas en dos secciones, la inferior con 5 a 9 radios filamentosos libres y la superior con radios normales conectados por una membrana; aletas pélvicas subabdominales; pedúnculo caudal fuerte y bien desarrollado; aleta caudal profundamente ahorquillada. Escamas ctenoides. Línea lateral extendida sobre la aleta caudal. Color: cuerpo verde-azulado a pardo-amarillento; aletas oscuras o negras a amarillo brillante. Esta familia está formada por 8 géneros y 42 especies.

Polydactylus approximans (Lay y Bennett, 1839)
"Ratón", "Barbudo azul"



Foto tomada de FishBase

Polynemus approximans Lay y Bennett 1839: 57 (descr. original; localidad típica: Mazatlán, Méx.). Regan, 1906-08: 73 (mención; Presidio, Sin.).

Polydactylus approximans (Lay y Bennett). Castro-Aguirre *et al.*, 1977: 160 (lista; laguna Occidental, Oax.). Amezcua-Linares, 1977: 10 (lista; laguna Huizache-Caimanero, Sin.). Castro-Aguirre, 1978: 75 (catálogo; distr.; río Presidio, Sin., laguna Occidental, Oax.). Chávez, 1979: 43 (lista; laguna Occidental, Oax.). Yáñez-Arancibia "1978" (1980): 101 (notas; laguna de Chautengo, Gro.). Álvarez-Rubio *et al.*, 1986: 194 (lista; laguna Agua Brava, Nay.). Minckley *et al.*, 1986: 548 (lista; Sinaloa).

Referencias: Allen y Robertson, 1998. Castro-Aguirre *et al.*, 1999. FAO, 1995. Yáñez-Arancibia, 1978.

Diagnosis: Cuerpo alargado y comprimido. Altura máxima de 3.0 a 3.5 (25 al 32 %) en la longitud patrón. Cabeza de 3.1 a 3.5 (28 a 35 %) en la longitud patrón; hocico cónico, prominente, algo translúcido, proyectado por delante de la boca, prominente, de 4.5 a 5.5 en la longitud cefálica; perfil del occipital casi recto en juveniles,

haciéndose cóncavo con el crecimiento; boca de tamaño mediano y subterminal, casi horizontal. Ojos grandes con un párpado adiposo, de 4.0 a 5.5 en la longitud cefálica; extremo posterior del maxilar rebasa el borde posterior del ojo, maxilar de 2.3 a 2.5 en la longitud cefálica; maxila no cubierta por escamas; preopérculo aserrado. Dientes viliformes en anchas bandas sobre el vómer. Branquiespinas moderadamente largas de 15 a 17 sobre la rama inferior del primer arco. Aletas dorsales bien separadas, la primera con siete y la segunda con una espina y 11 a 15 radios blandos; aleta anal con tres espinas y 14 radios. Aletas pectorales divididas en 2 secciones; la inferior con 5 o 6 radios libres el primero es el más largo, generalmente llega o pasa ligeramente el origen de la aleta anal; la superior con radios normales conectados por una membrana, siendo oscura o negra. Aletas pélvicas subdominales; pedúnculo caudal fuerte y bien desarrollado. Aleta caudal profundamente ahorquillada. Escamas de 55 a 62 en una serie longitudinal. Presenta 24 vértebras. La pectoral es larga de 3.5 a 3.8 en la longitud del cuerpo y de 1.1 a 1.2 en la longitud cefálica.

Color: Dorso café verdoso o azulado; flancos y vientre amarillentos. Una notoria mancha oscura en el opérculo. Aletas pectorales muy oscuras, filamentos pálidos; las otras aletas con puntuaciones más o menos oscuras.

Talla máxima: 35 cm de longitud total.

Hábitat: Especie de hábitos bentónicos en aguas someras, cerca de la costa, sobre sustratos de arena y fango; juveniles pelágicos. A veces penetran en aguas salobres y en las bocas de los ríos.

Dieta: Omnívora, se alimentan de pequeños crustáceos, gusanos, camarones, almejas y pequeños peces como las anchoas.

Ecología: Se encuentran bien documentados los registros que citan su presencia en los tapos (trampas para camarón de estero) y áreas de salinidad variable. Es factible clasificarla dentro del componente marino eurihalino, aunque solamente durante los estadios juveniles, ya que los adultos se encuentran, preferentemente, en la zona marina adyacente sobre fondos arenosos y lodosos. Especie estenohalina del componente marino 25-36.5 ‰. En el sistema lagunar –costero “Potosí”, esta especie se encontró entre los 5 y 9 ‰ para el mes de junio, en ambientes de tipo arenoso.

Distribución Geográfica: Pacífico Oriental; desde la costa suroccidental de Baja California y el Golfo de California hasta el Perú, incluyendo las islas Galápagos.

Localidades mexicanas: Lagunas Huizache-Caimanero, y río Presidio, Sin.; laguna Agua Brava, Nay.; laguna de Chautengo y laguna Potosí Gro.; laguna Occidental, Oax.

Pesca y utilización: Sus poblaciones son capturadas con redes de cerco, trampas, redes de enmalle y redes de arrastre. La carne es de excelente calidad; es considerada una especie comercial.

Lista roja de la IUCN: Preocupación Menor (LC).

CONCLUSIONES

El listado está constituido por 39 especies repartidas en 33 géneros y 22 familias; se encuentran dentro de la División Teleosteorpha. El orden Perciformes (12 familias) es el mejor representado. Las familias con mayor riqueza específica son Carangidae (7), Gerreidae (5), Clupeidae (3), Haemulidae (3) y Lutjanidae (2) Las especies más abundantes son *Diapterus peruvianus* 22%, *Lutjanus argentiventris* 20%, *Oligoplites refulgens* 17% y *Mugil curema* 10%.

De las especies descritas 28 son exclusivas del Pacífico oriental 72% (*Elops affinis*, *Anchoa macrolepidota*, *Anchoa nasus*, *Lile stolifera*, *Opistonema libertate*, *Synodus scituliceps*, *Centropomus robalito*, *Nematistius pectoralis*, *Trachynotus rhodopus*, *Oligoplites refulgens*, *Chloroscombrus orqueta*, *Selene brevoortii*, *Lutjanus novemfasciatus*, *Lutjanus argentiventris*, *Diapterus aureolus*, *Diapterus brevirostris*, *Eucinostomus currani*, *Eugerres axillaris*, *Haemulopsis axillaris*, *Haemulopsis leuciscus*, *Pomadasyss branicki*, *Polydactylus approximans*, *Chaetodon humeralis*, *Abudefduf troscheli*, *Gobionellus microdon*, *Sphyrna ensis*, *Citharichthys gilberti* y *Sphoeroides annulatus*)

Son objeto de explotación pesquera como fuente de sustento local y comercial las especies: *Opisthonema libertate*, *Chanos chanos*, *Mugil cephalus*, *Mugil curema*, *Centropomus robalito*, *Caranx caninus*, *Caranx sexfasciatus*, *Lutjanus novemfasciatus*, *Lutjanus argentiventris*, *Diapterus brevirostris*, *Polydactylus approximans*, *Sphyræna ensis*, *Dorosoma smithi*, *Diapterus aureolus*, *Haemulopsis axillaris* y *Pomadasys branicki*, sin embargo adolecen de estudios poblacionales previos y menos aún enfocados a los aspectos de regulación pesquera. Es por ello que al hacer un Listado taxonómico de una zona poca estudiada, se aportan grandes avances al estudio y conocimiento de la ictiofauna costera nacional.

BIBLIOGRAFÍA

1. (<http://www.fishbase.org/>). Yáñez, "Taxonomía, Ecología y Estructura de las Comunidades de Peces en Lagunas Costeras con Bocas Efímeras del Pacífico de México", (Centro de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM, México, 1978), Publicaciones Especiales. No.2. pp. 306
2. G.R. Allen y D.R. Robertson, "Edición Peces del Pacífico Oriental Tropical", (CONABIO, Agrupación Sierra Madre, S.C. y Cemey. Edits., México. 1998), 2da ed., pp. 327.
3. J.L. Castro, H.S. Espinosa y J.J. Schmitter, "Ictiofauna estuarino lagunar y vicaria de México", (Limusa, México, 1999), pp. 81-605.
4. J.S. Nelson, "Fishes of the World", (John Wiley and Sons, New Jersey, U.S.A, 2016), pp. 95-526.
5. W. Fischer, F. Krupp, W. Schneider, C. Sommer, K.E. Carpenter, y V.H. Niem, "Guía de la FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca", (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma, 1995), Pacifico Central-Oriental, Volumen, II y III, Vertebrados-Parte I y II, pp. 799-1629.

PRODUCCIÓN DE JITOMATE ORGÁNICO CON CULTIVO INTERCALAR Y APLICACIÓN DE MICROORGANISMOS EFICIENTES

Elizabet González Ojeda, María Socorro Orozco Almanza, Roberto Ramos González y María de Jesús Rojas Cortés

FES Zaragoza, UNAM.

RESUMEN

El objetivo de este trabajo, fue generar un plan de manejo para el cultivo orgánico del jitomate guaje (*Lycopersicum esculentum* Mill.), utilizando el cultivo intercalar y la aplicación de microorganismos eficientes (ME). El cultivo se realizó bajo condiciones de invernadero, se diseñaron cuatro tratamientos: 1) monocultivo+ME, 2) monocultivo sin ME; 3) policultivo+ME y 4) policultivo sin ME. Los cultivos se establecieron en camas biointensivas, utilizando bokashi como abono orgánico, se manejaron 22 plantas de jitomate en cada tratamiento y solo en aquellos con cultivo intercalar se manejaron 44 plantas de caléndula. La aplicación de ME en el cultivo intercalar incrementó el rendimiento del jitomate en un 39.66%, y en el monocultivo en un 19.42%. El tratamiento policultivo+ME no presentó infestación por nemátodos en las raíces del jitomate, mientras el monocultivo sin ME presentó una infestación del 100%. Por otro lado el cultivo intercalar jitomate-caléndula, controló la infestación por áfido negro en un 90.9%. Se concluye que el cultivo intercalar +ME permite una buena producción de jitomate sin la presencia de plagas.

INTRODUCCIÓN

El jitomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.) es uno de los frutos que por su alto contenido de vitaminas y minerales, bajo valor calórico y elevado contenido de agua (Ruiz *et. al.*, 2012) pertenece a los de mayor comercialización en todo el mundo, debido también a su gran versatilidad, tanto en el consumo fresco del fruto, como en su uso en la industria (Mondragón, 2007).

Su producción es de suma importancia para el país, debido a que es la octava hortaliza con mayor valor en el territorio, principalmente por la producción de la variedad saladette que representa el 56% del total, y de la variedad bola cuya producción alcanza el 14% (SAGARPA, 2010). A nivel mundial México es el principal exportador (Ortega, 2009).

En México, el jitomate se cultiva principalmente, bajo el modelo de la agricultura industrial, destacando los estados de la República como Sinaloa en donde se produce cerca del 50% del total nacional, Michoacán y San Luis Potosí participan con el 15% y 10% respectivamente (SAGARPA, 2010), sin embargo este tipo de producción impacta considerablemente al ambiente, debido a la utilización de productos químicos como fertilizantes y plaguicidas, que más que ayudar a obtener una buena producción, perjudican la fertilidad del suelo; además las prácticas de labranza intensiva, monocultivo, utilización de variedades mejoradas, riego y uso de herbicidas, provocan la destrucción de la biodiversidad del planeta.

Actualmente, se vive un estado de crisis, en donde la sostenibilidad de los ecosistemas naturales se está perdiendo, y de seguir bajo este modelo de producción agroalimentaria, las generaciones venideras serán gravemente afectadas en su supervivencia. Es importante por lo tanto trabajar con un modelo de producción de alimentos que genere un bajo impacto en el ambiente y fomente una alimentación sana, este modelo es conocido como "Agricultura Orgánica o Ecológica".

Esta agricultura se caracteriza por no utilizar insumos químicos para la producción, ni variedades mejoradas genéticamente. Fomenta el cuidado de la fertilidad del suelo y de la biodiversidad, sus prácticas son la labranza de conservación, labranza cero, policultivos, abonos orgánicos, cultivos de cobertura, abonos verdes, control holístico de plagas y utilización de semillas criollas (Céspedes, 2005).

En los últimos años la Agricultura Orgánica se ha incrementado en el país, sin embargo la producción de ésta, se exporta en un 85% y el mercado interno aún es muy poco (15%) (Gómez y Gómez, 2004), de aquí la necesidad de generar planes de manejo orgánico que permitan su adopción por productores en conversión y que ofrezcan rendimientos satisfactorios, así como la posibilidad de desarrollar un mercado interno.

Es importante mencionar, que en México aún existen en diversas regiones, grupos indígenas y campesinos que aún practican la agricultura ecológica, la cual se integra de un gran conocimiento tradicional para conservar los

recursos naturales como el suelo y la biodiversidad y que han sido la base para el desarrollo de la Ciencia de la Agroecología (Altieri, 1999).

Es necesario desarrollar ecotecnias sostenibles, que contribuyan al conocimiento del manejo de recursos locales que con el mínimo gasto energético permitan la producción de alimentos sanos.

Por lo anterior, el presente trabajo tuvo como objetivo realizar un cultivo orgánico de jitomate guaje asociado con caléndula y la aplicación de ME bajo condiciones de invernadero, con el fin de generar un plan de manejo que permita la producción para autoconsumo y mercadeo de baja escala o para un mercado local.

PARTE EXPERIMENTAL

El estudio se realizó durante la época primavera-verano de 2016, bajo condiciones de invernadero, en el Centro de Capacitación en Agricultura Urbana “Chimalxochipan”, localizado en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Campo II, UNAM.

Se utilizaron semillas de jitomate variedad guaje (*Lycopersicon esculentum* Mill.). La germinación de las semillas, se realizó en cajas petri con agar bacteriológico al 10%, las semillas fueron previamente desinfectadas con una decocción de cola de caballo (25 g/l).

Se utilizaron dos parcelas de 0.80 m de ancho por 13.2 m de largo, las cuales fueron abonadas con bocashi (5 kg/m²), cascarón de huevo (2 g/m²), ceniza (0.5 g/m²) y harina de rocas (0.5 g/m²). Se instaló un sistema de riego por goteo en cada parcela.

Para los tratamientos, las parcelas se dividieron en tres secciones: monocultivo (caléndula), policultivo (jitomate y caléndula) y monocultivo (jitomate). El trasplante se efectuó mediante la técnica de tres bolillo con una separación de 40 cm entre cada planta de jitomate y de 20 cm entre cada planta de caléndula. Las dos parcelas estuvieron constituidas de la misma manera. La densidad de plantación fue de 5 plantas de jitomate y de 10 plantas de caléndula por m².

Una de las parcelas fue regada con microorganismos eficientes (consorcio de microorganismos, bacterias, hongos, actinomicetos y otros elaborados en el Centro Chimalxochipan) (Álvarez *et. al.*, 2012). Desde el momento del trasplante del jitomate hasta la floración, se aplicó un litro de agua por planta durante el riego y en la etapa de fructificación dos litros por planta. Semanalmente se realizó la eliminación de los brotes axilares (chupones), al mismo tiempo se colocaron los tutores para favorecer la producción de frutos (Hernández *et. al.*, 2011). Una vez que inicio la floración, se realizó la polinización (con un vibrador electrónico) (*com. pers.* Luna, 2013).

Se evaluaron quincenalmente en ocho plantas elegidas al azar, las siguientes variables de respuesta:

Altura: se consideró la longitud del tallo desde su base hasta la yema apical.

Diámetro del tallo principal: se midió a 5 cm desde la superficie del sustrato.

Fructificación: número de racimos por planta, número de frutos por planta, diámetro polar (determinado tomando la longitud desde la zona del hilo a la zona apical) y diámetro ecuatorial (diámetro de la parte media del fruto).

Índices de calidad Morfológica: se calculó el índice de esbeltez, Índice tallo/raíz y el índice de calidad de Dickson (Birchler *et. al.*, 1998).

Índice de calidad fisiológica: se realizó un análisis de tejido vegetal para obtener el contenido nutrimental del fruto (Departamento de Suelos. Laboratorio Central Universitario. Universidad Autónoma Chapingo).

Rendimiento: se obtuvo el rendimiento total mediante la sumatoria del peso de los cinco racimos de los tratamientos por m².

Se realizó un Análisis Estadístico de las variables realizadas con una ANOVA completamente al azar, con ocho repeticiones y las medias se compararon por la prueba de diferencia mínima de Tukey-Kramer ($p \geq 0.05$). Programa NCSS versión 7.

RESULTADOS

La altura de la planta de jitomate y el diámetro del tallo principal no presentaron diferencias estadísticas significativas ($p \geq 0.05$) entre tratamientos. El policultivo+ME presentó el valor más alto en estas dos variables, siendo el monocultivo+ME el que presentó menor altura y el policultivo sin ME menor diámetro (Cuadro1).

Cuadro 1. Variables evaluadas en los cuatro tratamientos. Letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos ($\alpha=0.05$).

Tratamiento	Altura (cm)	Diámetro (cm)	Número de racimos /planta	Número de frutos por planta
Monocultivo+ME	80.63 ± 2.25 a	1.36 ± .05 a	8.00 ± 0.42 a	25.88 ± 1.48 a
Policultivo+ME	93.00 ± 6.11 a	1.39 ± 0.04 a	7.63 ± 0.26 a	23.00 ± 4.70 a
Monocultivo sin ME	82.50 ± 4.68 a	1.33 ± 0.02 a	4.38 ± 0.26 b	14.75 ± 1.17 b
Policultivo sin ME	85.38 ± 3.11 a	1.28 ± 0.02 a	3.88 ± 0.35 b	16.75 ± 1.57 b

Respecto a los racimos obtenidos por planta y los frutos totales, se presentaron diferencias estadísticas significativas ($p \geq 0.05$) entre los tratamientos con y sin aplicación de ME. Los dos tratamientos, mono y policultivo con ME presentaron la mayor cantidad de racimos y de frutos por planta, mientras que los tratamientos sin ME presentaron la menor cantidad (Cuadro 1).

En el diámetro polar y ecuatorial de los frutos, los tratamientos no presentaron diferencias estadísticas significativas ($p \geq 0.05$) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Diámetro polar y ecuatorial de los frutos por tratamiento. Letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos ($\alpha=0.05$).

Tratamiento	Diámetro polar (cm)	Diámetro ecuatorial (cm)	Rendimiento total (kg/m ²)
Monocultivo+ME	5.84 ± 0.04 a	5.07 ± 0.07 a	4.17
Policultivo+ME	5.16 ± 0.74 a	4.50 ± 0.64 a	4.21
Monocultivo sin ME	5.97 ± 0.14 a	4.82 ± 0.13 a	3.36
Policultivo sin ME	5.58 ± 0.12 a	4.84 ± 0.06 a	2.54

El rendimiento presentó diferencias entre tratamientos (Cuadro 2). El policultivo+ME presentó el mayor rendimiento por área, el policultivo sin ME el menor rendimiento y los tratamientos de monocultivo con y sin ME presentaron valores intermedios. Es importante resaltar que los mejores rendimientos se presentaron con los tratamientos donde se aplicaron los ME.

VARIABLES DE BIOMASA

En el cálculo del Índice de esbeltez (IE), Índice de tallo/raíz (ITR) e Índice de calidad de Dickson (QI), solo se obtuvieron valores del policultivo+ME y monocultivo sin ME. El IE es un indicador que evalúa la resistencia de una planta, en donde valores menores a seis representan una mejor calidad de la planta (Prieto *et al.*, 2003 y Prieto *et al.*, 2009 citado por Sáenz *et al.*, 2010), el ITR refleja la producción de biomasa, el obtener valores menores a uno indica mayor biomasa subterránea que área y teniendo valores mayores a uno indica lo contrario (Rodríguez, 2008 citado por Sáenz *et al.*, 2010). El QI indica la calidad de la planta de manera más precisa debido a que utiliza los dos parámetros anteriores, en donde a mayor valor de índice mejor calidad tendrá la planta (Sáenz *et al.*, 2010), por lo que las plantas del tratamiento Monocultivo sin ME presentaron una mayor calidad.

Cuadro 3. Valores del Índice de esbeltez (IE), Índice de tallo/raíz (ITR) e Índice de calidad de Dickson (QI).

Tratamiento	IE	ITR	QI
Policultivo+ME	6.75	22.76	23.85
Monocultivo sin ME	6.21	10.45	45.69

VARIABLES DE LA CALIDAD FISIOLÓGICA DEL FRUTO

En el Cuadro 4 se pueden observar los valores del contenido nutrimental del jitomate cultivado de manera orgánica.

Cuadro 4. Contenido de Nutrientes

	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Cu	Zn	Mn	B
	%	%	%	%	%	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg
Jitomate	2.6	0.4	2.9	1.13	0.42	108	9.31	48.2	52.84	48.06

CONCLUSIONES

La asociación del jitomate con caléndula no influye en la altura y diámetro de la planta.

La aplicación de ME ayuda a la regulación de plagas, como el áfido negro y evita al 100% la infestación por nematodos en la raíz.

La aplicación de ME en los tratamientos favorece a la producción de racimos y por lo tanto un mayor número de frutos por planta.

El tratamiento de policultivo+ME proporciona una mayor homogeneidad en el tamaño e incrementa el rendimiento de los frutos.

BIBLIOGRAFIA

1. Altieri, M. (1999). *Agroecología Bases científicas para una agricultura sustentable*. Lima: Editorial Nordan-Comunidad.
2. Álvarez, J., Núñez, D., Liriano, R., y Terence, G. (2012). Evaluación de la aplicación de microorganismos eficientes en col de repollo (*Brassica oleracea* L.) en condiciones de organopónico semiprotegido. *Centro Agrícola*, 27-30.
3. Birchler, T., Rose, R., Royo, A., y Pardos, M. (1998). La planta ideal: Revisión del concepto, parámetros definitorios e implementación práctica. *Investigación agraria. Sistemas y recursos forestales*, 109-121.
4. Céspedes, M. (2005). *Agricultura Orgánica Principios y prácticas de producción*. Chillán: Instituto de Investigaciones Agropecuarias.
5. Gómez, L., y Gómez, M. (2004). La agricultura orgánica en México y en el mundo. *Biodiversitas*, 55: 13-15.
6. Hernández, V., Nieto, A., y Navarro, L. (2011). *Cultivo del tomate en hidroponía e invernadero*. México: Mundi-Prensa.
7. Luna, H. A. 2013. Producción de jitomate orgánico. Finca orgánica los Cedros Contreras, Ciudad de México. Comunicación personal.
8. Mondragón, L. (2007). *Producción de jitomate en invernadero*. Estado de México, México: Gobierno del Estado de México. Secretaría de Desarrollo Agropecuario. Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria Acuícola y Forestal del Estado de México, ICAMEX.
9. Ortega, G. (Diciembre de 2009). *FAO*. Obtenido de <http://www.baseis.org.py/wp-content/uploads/2014/03/1395155082.pdf>
10. Ruiz, J., Vicente, A., Montañez, J., Raúl, R., y Aguilar, C. (2012). Un tesoro percedero en México: el tomate, tecnologías para prolongar su vida en anaquel. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*(54), 57-63.
11. Sáenz, R. J., Villaseñor, R. F., Muñoz, F. H., Rueda, S. A., y Prieto, R. J. (2010). *Calidad de planta en viveros forestales de clima templado en Michoacán*. Uruapan, Michoacán, México: Folleto Técnico Núm. 17. SAGARPA-INIFAP-CIRPAC-Campo Experimental Uruapan.
12. SAGARPA. (Agosto de 2010). *SAGARPA*. Obtenido de <http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/documents/pablo/documentos/monografias/jitomate.pdf>

UBICACIÓN ESPACIO-TEMPORAL DE *CENTROPOMUS ROBALITO* EN EL COMPLEJO LAGUNAR CHACAHUA-PASTORÍA.

Inda Dani Zurita Rivera, Ricardo Campos Verduzco y José Juan Velázquez Juárez

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa email: indazurita.hb@gmail.com

RESUMEN

El complejo lagunar Chacahua-Pastoría cuenta con una superficie de 3,525 hectáreas, se ubica en la parte central costera de Oaxaca, cuenta con gran diversidad de peces, entre ellos la familia Centropomidae, es un grupo importante para el sustento de pobladores ribereños. Destaca *Centropomus robalito* conocido como robalo de alta amarilla, chucumite o robalito. Es una especie eurihalina que habita en sistemas lagunares-estuarinos y zonas costeras remontando las corrientes de agua dulce en zonas tropicales y subtropicales. Su dieta consiste principalmente de pequeños peces, crustáceos y moluscos. Se distribuyen en el Pacífico oriental desde el Golfo de California hasta el norte de Perú. Es una especie altamente comercial razón por la cual se busca dar sostenibilidad a su explotación. En este trabajo se identifican las zonas de pesca más comunes en Chacahua-Pastoría y los rangos de tallas para cada zona. Como primer paso en la readecuación de la actividad, se dio a conocer el tema a los pescadores y se dimensionó la captura mediante cuestionarios realizados a un integrante pescador por familia en cada localidad; con los resultados se lograron realizar mapas haciendo uso de sistemas de información geográfica (SIG), encontrándose que el género *Centropomus* se distribuye a todo lo largo de la laguna, presente todo el año y por lo tanto es presa fácil, sin embargo las tallas comienzan a ser deficientes debido a las malas técnicas de pesca (llevadas a cabo durante al menos la última década). Por otra parte, se prevé un mayor decaimiento de la captura por la descarga de sustancias contaminantes al complejo.

INTRODUCCIÓN

Según Lankford (1977) una laguna costera puede definirse como una “depresión de la zona costera por debajo del promedio mayor de las mareas más altas teniendo una comunicación con el mar permanente o efímera, pero protegida de las fuerzas del mar por algún tipo de barrera”.

La mayoría de las especies costeras tropicales de importancia pesquera son total o parcialmente dependientes estuarinos. Dependiendo de sus estrategias alimentarias o reproductivas, los peces y los crustáceos utilizan las lagunas estuarinas en diferentes maneras; el uso de este medio ambiente por los organismos marinos o dulceacuícolas no es al azar, pues muchas especies han seleccionado este ecosistema a través del comportamiento evolutivo y adaptaciones morfológicas y fisiológicas, que optimizan el uso de los estuarios durante las etapas juveniles de los organismos por la sincronía de la reproducción y el patrón de migración, explotando tiempos y espacios de alta productividad (Yañez-Arancibia, 1986).

Centropomus robalito (Jordan y Gilbert, 1881). Robalo aleta amarilla, robalito, pijolin.

Diagnosis: radios dorsales VIII +I,10 (raramente 9 u 11); radios anales: III,6 (raramente 7); radios pectorales: 14-16 (usualmente 15); total de branquiespinas en el primer arco incluyendo rudimentos: 26-31 (usualmente 27-30); escamas en la línea lateral: 47-55 (usualmente 54-54); escamas alrededor del pedúnculo caudal: 18-22 (usualmente 19-21); segunda espina anal muy fuerte, mucho más larga que la tercera, llega o pasa el nivel de la base de la caudal cuando se baja, y claramente excede en longitud al radio anal más largo; plateado, una barra oscura en la base de la aleta pectoral; aletas anal y pélvica amarillas.

Difiere de las otras especies en que cuenta con una segunda espina anal, que al plegar hacia abajo alcanza o supera el origen de la aleta caudal; aletas pectorales y pélvicas sub-iguales; el primer arco branquial con 26 a 31 branquiespinas; parte posterior color azul gris; vientre blanco; pálida línea lateral; membranas entre espinas dorsales y entre la segunda y tercera espinas anales. (Jiménez-Prado y Béarez, 2004).

Distribución: Golfo de California a Perú. Alcanza hasta por lo menos 35 cm (Allen y Robertson, 1988).



Figura 1. *Centropomus robalito* (Jordan y Gilbert, 1881). Tomado de: <http://www.fishbase.org/summary/Centropomus-robalito.html>

OBJETIVOS

Conocer las zonas de distribución y pesca de *Centropomus robalito* dentro del complejo lagunar Chacahua-Pastoría (Oaxaca, México).
 Analizar como las prácticas de pesca dentro del complejo lagunar Chacahua-Pastoría ha afectado productividad de *C. robalito*.

PARTE EXPERIMENTAL

Área de estudio:

El Parque Nacional "Lagunas de Chacahua" cuenta con una superficie de 3,525 ha. Fue decretado Parque Nacional en 1937 por decreto del Presidente Lázaro Cárdenas (Sosa, 1937) y el 02 de febrero de 2008 fue designado sitio RAMSAR con una superficie de 17,424 ha. Se ubica en el municipio Villa de Tututepec de Melchor Ocampo en el estado de Oaxaca. Se localiza entre los paralelos 15° 58' y 16° 02' de latitud norte y los meridianos 97° 33' y 97° 47' de longitud oeste (Vargas, 1997).

El sistema lagunar costero Chacahua-Pastoría comprende la mayor parte del Parque Nacional, consta de 3 lagunas costeras: La Pastoría, Chacahua y Las Salinas o Tianguisto; las dos primeras, unidas por un canal llamado "del Corral" y existen varias pequeñas lagunas accesorias y canales pequeños. Llegan a las lagunas pequeños ríos temporales como El Chacalapa y El San Francisco, además el Departamento de Pesca (1979) menciona al Río Zapotalito y los arroyos El Carrizo y El Gallinero.

El clima según la UNAM (1980) y Contreras (1985) es [Awi(w)ig] cálido subhúmedo con lluvias en verano.

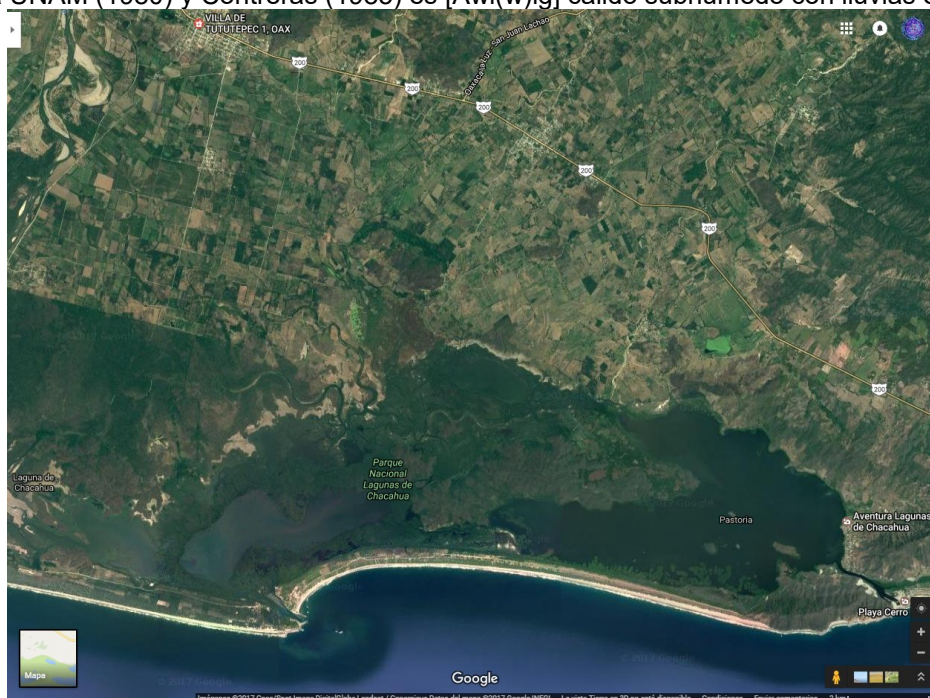


Figura 2. Ubicación del parque nacional Lagunas de Chacahua.

Este complejo se caracteriza por ser una depresión inundada en la margen interna del borde continental. La extensión que presenta el complejo es de 13 274 ha, de las cuales 2902.7ha constituyen tres lagunas mayores: Chacahua, Tianguisto y La Pastoría (Chan Keb *et al*, 2013).

En la zona se lleva a cabo pesca media de tipo artesanal y en cooperativas. Cultivos de cocodrilo (*Crocodylus acutus* y *C. moreletii*) y ostión (*Crassostrea sp*), explotación de langostinos (*Macrobrachium americanum* y *M. tenellum*), lisa (*Mugil cephalus*), robalo (*Centropomus robalito*, *C. nigrescens* y *C. viridis*). Turismo poco relevante, agricultura de temporal y ganadería.

Problemática:

El Acuerdo Administrativo Número 6C/6C.5/IEEDS/DG/0001/2014 del Diario Oficial del Gobierno Constitucional del Estado Libre y Soberano de Oaxaca presenta el resumen ejecutivo y programa de ordenamiento ecológico local del municipio de Villa de Tututepec de Melchor Ocampo, Oaxaca, en él no se establecen normativos sobre el uso y aprovechamiento de los recursos pesqueros; el Programa de Manejo del Parque Nacional Lagunas de Chacahua publicado en el Diario Oficial de la Federación el 11 de noviembre de 2013 (DOF:11/11/2013) reconoce la actividad pesquera como un proceso desordenado, carente de estadísticas fiables que permitan desarrollar las actividades con un enfoque ecosistémico. Aunado a esto el problema de la introducción de fauna exótica (Tilapia: *Oreochromis sp*), y la constante contaminación proveniente de los asentamientos humanos y zonas de cultivo (conabio.gob.mx, 2015).

Metodología

Se construyó una encuesta que consta de tres partes, la primera basada en INEGI (2010) del censo de población y vivienda; la segunda parte basada en algunas preguntas de la FAO (Departamento de Pesca, 2013) extraídas de sus encuestas de: a) producción pesquera, b) estadística de captura y esfuerzo, c) datos de frecuencia de tamaños y d) desglose del tiempo de operación durante la pesca. Como tercera parte, se agregó un mapa cuadrulado hecho con el programa QGIS 2.4.0-Chugiak® (2014) (figura 3), en este mapa el encuestado indicaba las zonas donde pesca regularmente, cada cuadrícula se encuentra georeferenciada lo que permitió su introducción a la base de datos y posteriormente la fabricación de distintas capas.



Figura 3. Mapa cuadrulado incluido en los cuestionarios para conocer las zonas donde se lleva a cabo la pesca cada especie mencionada por los pescadores.

La información geográfica obtenida de campo se condensa empleando el programa QGIS 2.4.0-Chugiak para insertarla en mapas temáticos.

Debido a que los pescadores conocen a los centropómidos de tallas similares (25-30 cm) como pijolines se realizó la capa de “zonas de distribución de *Centropomus spp.*” Generando los polígonos con un buffer de 350m del registro central aplicando una capa envolvente; en el caso de las zonas de pesca de las localidades, se utilizó un buffer de 100m del registro central. Para ambos casos se tomó la imagen satelital de DigitalGlobe 2015 (satélite IKONOS).

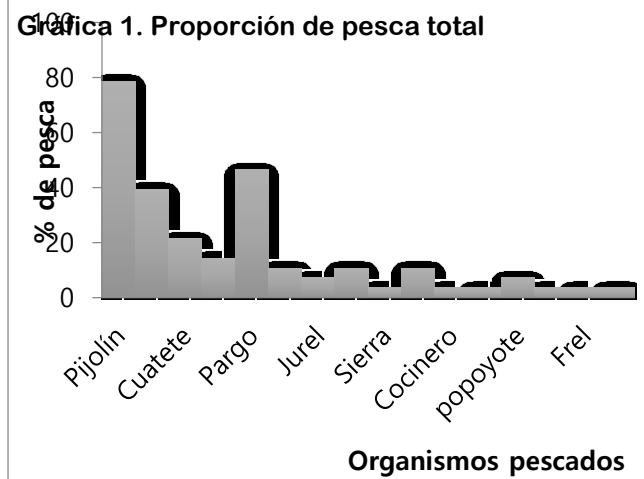
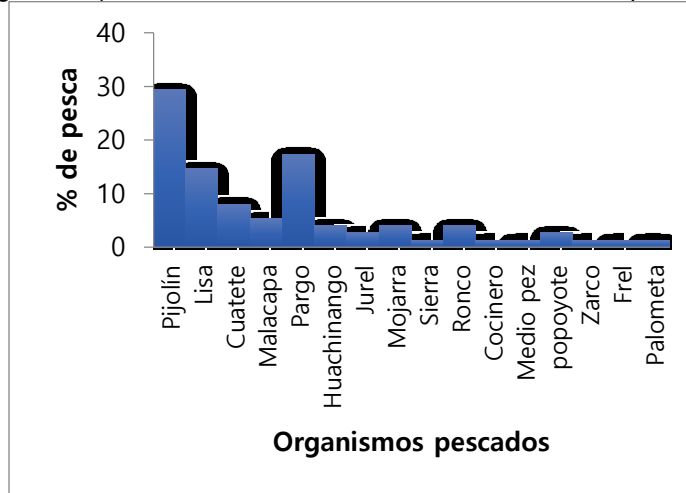
RESULTADOS

Con las 28 encuestas realizadas se encontró que en el complejo lagunar Chacahua-Pastoría se aprovechan más de 25 especies de las cuales alrededor de 18 son especies ícticas, y las restantes pertenecen a los grupos de moluscos (bivalvos principalmente) y crustáceos.

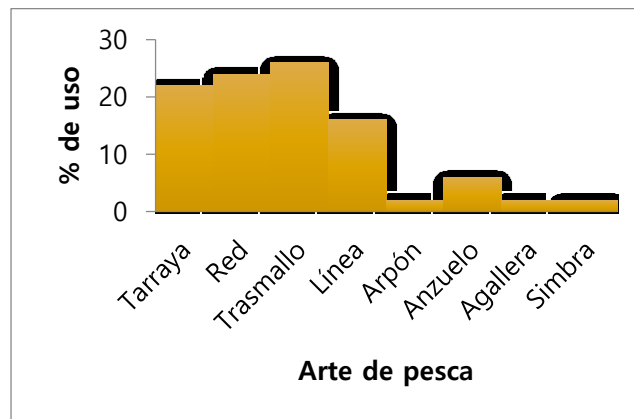
En el complejo lagunar existen 3 de las 6 especies, distribuidas en el Pacífico oriental, de *Centropomus*: *C. robalito* (robalito), *C. nigrescens* (robalito negro) y *C. viridis* (robalito blanco), los cuales se reunieron en un solo

grupo, para la presentación de la gráfica 1 y la realización de los mapas debido a la similitud que presentan entre ellos al tener tallas entre los 20 y 30 cm, además de la importancia pesquera que el grupo de los “robalos” representa para los pescadores.

Se obtuvieron datos de frecuencia de pesca, para noviembre del 2014, de 16 grupos ícticos (gráfica 1), con un total de pesca de 1500kg/semana, siendo el pijolin el organismo más abundante con un 29.33% (440kg/semana) y más frecuentemente encontrado (78.57%, Gráfica 2), además se logró conocer el porcentaje de uso de los diferentes artes de pesca (gráfica 3), siendo el trasmallo el más utilizado con un porcentaje del 26%.

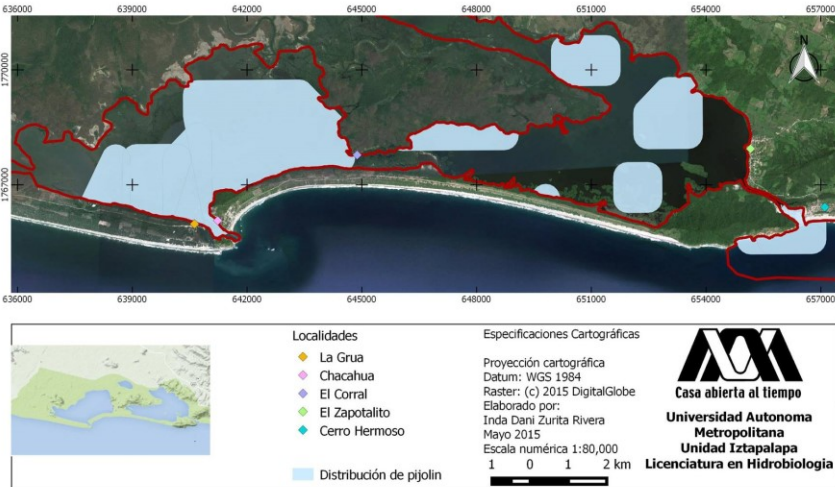


Gráfica 2. Frecuencia de pesca de los organismos pescados en el complejo lagunar Chacahua-Pastoría



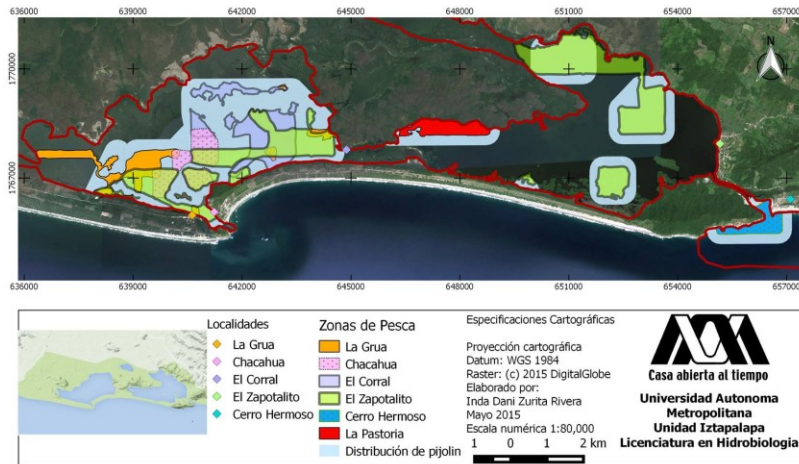
Gráfica 3. Artes de pesca utilizados (preferencia de los pescadores).

En el mapa 1 se presenta la distribución que ocupan las 3 especies de robalos conocidos en la zona como pijolines (al tener tallas de 25-30cm)



Mapa 1. Áreas de distribución del pijolin, incluyendo las especies *C. nigrescens*, *C. robalito*, y *C. viridis* con tallas de 25-30cm.

El mapa 2 muestra las áreas de pesca habitual de las 6 localidades, donde se observa que la localidad El Zapotalito mantiene un área de pesca bastante amplia ocupando áreas en ambas lagunas, mientras que Pastoría y Cerro Hermoso son localidades que ocupan poca área de pesca.



Mapa 2. Zonas de pesca por localidad dentro del complejo lagunar Chacahua-Pastoría.

Discusión:

En el área de estudio se encuentran tres especies del género *Centropomus* estos comparten además del área de distribución, hábitats similares, ciclo de vida semejante (época reproductiva durante el verano pero no precisamente al mismo tiempo, además de alcanzar la madurez sexual a edades distintas). Es importante resaltar las diferencias debido a los diferentes tiempos de desarrollo y crecimiento de cada especie. Al reconocerse al pijolin como un recurso basto, la confusión entre las especies provoca la pesca descontrolada de este, sin saber que en realidad se tiene el riesgo de perder a una o las tres especies al llevar a cabo la extracción de organismos de tallas y características similares, que muy seguramente no se han terminado de desarrollar sexualmente, lo que con el tiempo provocaría el descenso de las poblaciones al no existir individuos reproductores.

Importancia pesquera

La pesca, como actividad económica y recurso alimenticio dentro del país es muy importante, para el complejo lagunar Chacahua-Pastoría cumple la función de brindar calidad de vida para sus habitantes.

Con las encuestas realizadas se encontró que al pescar el 29.33% de organismos encontrados son robalo (*Centropomus* spp.), pez de alta calidad de carne y por su abundancia en la zona generalmente de bajo costo, seguido del pargo (*Lutjanus* spp) y posteriormente la lisa (*Mugil cephalus*), especies de gran calidad alimenticia pero más caros en el mercado (gráfica 1).

Pese a que no se logró conocer la proporción de pesca existente entre el grupo de robalo, se sabe, gracias a los pescadores, que el pijolin es el más extraído, al realizar una pesca poco selectiva, es decir utilizando artes de pesca que permiten extraer diferentes especies donde lo único selectivo es la talla de organismos que se extraen debido a la luz de malla. Lo que si se encontró, es que el pijolin se distribuye y se pesca más ampliamente en la zona de la laguna de Chacahua, sin embargo esto no descarta a Pastoría (mapa 2) como fuente importante del recurso ya que es hacia las orillas de ambas lagunas donde las crías residen hasta llegar a una talla juvenil y pasan a zonas más abiertas. Se hace evidente que el control pesquero ha disminuido, pues a pesar de encontrar el recurso, no se encuentra en las tallas deseadas (35 cm o más, tallas de organismos adultos) para comerciar fuera de la zona, pasando a ser usado solo como alimento para la población local o para venta en los restaurantes de la zona (talla de plato, de 20-25 cm, organismos jóvenes posiblemente comenzando su etapa reproductiva) con impacto en época vacacional por la demanda.

CONCLUSIONES

Centropomus robalito se distribuye a lo largo del complejo lagunar Chacahua-Pastoría de manera homogénea a lo largo del año, compartiendo el hábitat (mismas zonas de pesca) con sus congéneres *C. nigrescens* y *C. viridis*, sin embargo todo el año se pescan tallas alrededor de los 20-25 cm, lo que indica problemas con la población debido a un mal manejo pesquero, pues la talla común de esta especie es de 35 cm.

La realización de los mapas mediante SIG permite y permitirá, en un futuro, que además de conocer las áreas de pesca por localidad y la distribución espacio-temporal de *C. robalito*, así como de otras especies presentes, se pueda llevar a cabo un plan de manejo pesquero para cada especie presente en el complejo lagunar, pudiendo comenzar con *C. robalito* debido a los problemas que han surgido en cuanto a la disminución de su población, la presencia de tallas pequeñas y a su gran importancia comercial.

Al conocer los artes de pesca utilizados dentro del complejo lagunar Chacahua-Pastoría y ayudándonos de documentos oficiales sabemos que en la zona pese a ser un ANP se presentan, si bien en un bajo porcentaje, incumplimientos a la ley en cuanto al uso de estos artes ya sea por la desactualización de los pescadores o por la competencia constante entre estos. Este incumplimiento a las leyes ha traído consigo problemas de disminución de tallas de los organismos de *C. robalito*.

BIBLIOGRAFÍA

1. Chan Keb, C.A., G. Linares, C. Agraz, M. Valera, R. Pérez, y M. Villegas, 2013. *Correlaciones canónicas en los bosques de manglar del sistema lagunar Chacahua-Pastorías, Oaxaca*. Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ. XI (3): 27-34
2. CONABIO. 2015. *Regionalización. Río verde*. Disponible en línea en: http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/regionalizacion/doctos/rhp_031.html
3. Contreras, E.F. 1985. Las lagunas costeras mexicanas. Centro de Ecodesarrollo, México, D.F., 263 pp.
4. Departamento de Pesca. 1979. *Estudio y proyecto del canal de intercomunicación de Chacahua-La Pastoría, Estado de Oaxaca*. Secretaría General de Recursos Pesqueros. Dirección General de Infraestructura Pesquera. Contrato 157-79 Construcciones y Proyectos Civiles S.A. D.F. México. 227 p.
5. Departamento de pesca, 2013. *Orientaciones prácticas para el seguimiento estadístico de la pesca*. Depósito de documentos de la FAO. Disponible en línea en: <http://www.fao.org/docrep/003/t0011s/t0011s10.htm>
6. Diario Oficial de la Nación. 2006. *Carta Nacional de Pesca, segunda sección*. Disponible en línea en:
7. <http://www.inapesca.gob.mx/portal/documentos/publicaciones/CARTA%20NACIONAL%20PESQUERA/Sagd08252.pdf>
8. Instituto Nacional de estadística y Geografía-INEGI. 2010. *Censo de población y vivienda. Censo 2010*. México. Disponible en línea en: http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/ccpv/cpv2010/doc/cpv2010_cuest_basico_d.pdf

9. Jiménez-Prado, P. y P. Béarez. 2004. *Peces Marinos del Ecuador continental. Tomo 2: Guía de Especies*. SIMBIOE/NAZCA/IFEA.
10. Lankford, R.R. 1977. *Coastal lagoons of Mexico: their origin and classification*. pp 182-215. In: M. Wiley (Ed.) *Estuarine Processes*. Academic Press Inc, New York, 428 pp.
11. QGIS 2.4.0 Chugiak. Quantum GIS Development Team, <2014>. Quantum GIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. <http://qgis.osgeo.org>.
12. Sosa, A.H. 1937. *El parque nacional Chacahua, en el Estado de Oaxaca*. Depto. Forestal, de Caza y Pesca. Boletín (Méx.) 30 (8): 263-298.
13. Vargas, M. F. 1997. *Parques nacionales de México. Volumen II: zonas norte y sur*. INESEMARNAT (Ed.). 343 p.
14. Yañez-Arancibia, A. 1986. *Ecología de la zona costera. Análisis de los siete tópicos*. AGT Editor, S.A. México. 189pp.
15. <http://www.fishbase.org.html>

CONTRIBUCIÓN AL CONOCIMIENTO DE AGENTES PATÓGENOS EN LA COMUNIDAD DE ANUROS DEL ÁREA NATURAL PROTEGIDA “LAS MUSAS, GUANAJUATO, MÉXICO

Laviada-Camarena Ingrid Paulina, Márquez-Lucio Maria Azucena, Leyte-Manrique Adrián, Alejo-Iturvide Francisco

Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Instituto Tecnológico Superior de Salvatierra

RESUMEN

En los últimos 20 años, se ha registrado un declive a nivel mundial sobre distintas especies de anfibios, lo cual pone en riesgo a sus poblaciones y permanencia en los ecosistemas en los que se encuentran. El declive de anfibios, se ha documentado en ambientes tanto templados como tropicales del mundo. Siendo una de los principales causas de una baja en las poblaciones y extinción el cambio climático. Éste tiene efectos en los patrones de precipitación y temperatura, y los cuales tienen efectos nocivos en aspectos relacionados a la ecología y biología de los anfibios, como es el caso de los anuros (ranas y sapos), así como en la aparición, propagación y permanencia de agentes patógenos microbianos como son bacterias, hongos y virus. Para determinar la presencia de los patógenos en el estado de Guanajuato, se ha realizado un primer estudio en el Área Natural Protegida (ANP) Las Musas, donde durante los meses de septiembre a enero se han recolectado muestras de un total de 70 individuos, pertenecientes a las especies de *Hyla arenicolor* (24.28%), *Lithobates neovolcanicus* (35.7%), *Incilus occidentalis* (7.14%), *Hyla eximia* (28.57%), y *Anaxyrus compactilis* (4.31%). Del total de los 70 individuos más del 50% han presentado síntomas de algún tipo de enfermedad y donde se han recolectado 4 individuos muertos que representan el 5.7% del total, los cuales han sido llevados al laboratorio para continuar con los estudios microbiológicos correspondientes. Las enfermedades registradas han afectado principalmente a la especie *Lithobates neovolcanicus* y en menor medida a la especie *Anaxyrus compactilis*.

INTRODUCCIÓN

El ANP “Las Musas” es uno de los más bellos atractivos turísticos del municipio de Manuel Doblado. Los principales problemas que se presentan, son el desmonte por el crecimiento de los asentamientos humanos de las comunidades existentes, debido a la mala planificación, lo que incrementa el cambio de uso de suelo; la erosión y la contaminación del suelo; la tala inmoderada; la cacería ilegal; la presencia de plantas parásitas; la introducción de especies no nativas de flora y de fauna; la contaminación del agua proveniente de la presa Potrerillos y del río Colorado, originada por la ganadería al ubicarse corrales en las márgenes del río Colorado; el deterioro ambiental y la contaminación producida por las actividades recreativas sin regulación y control, así como por el vandalismo acaecido sobre la zona más visitada del río cercana a la comunidad de La Torrecilla. (IEE, 2013). En los meses de septiembre a enero se ha observado a las diferentes especies de anuros que existen en el ANP “Las Musas”, donde están registradas por el Instituto de Ecología del Estado seis especies de anfibios las cuales son: *Lithobates neovolcanicus*, *Hyla eximia*, *Hyla arenicolor*, *Incilus occidentalis*, *Anaxyrus compactilis* y *Rhinella marina*. Las cuales se han visto amenazadas en los últimos años por diferentes causas pero principalmente por agentes patógenos como bacterias, virus y hongos. Guanajuato es uno de los estados de la República Mexicana menos estudiados en cuanto a anfibios y reptiles se refiere. A pesar de que su sistema de ANP está distribuido plenamente dentro de la entidad, los esfuerzos de estudios herpetofaunísticos se han enfocado a una reserva de la biosfera (Sierra Gorda), un parque ecológico (lago cráter La Joya), un área de restauración ecológica (laguna de Yuriria y su zona de influencia) y tres áreas de uso sustentable (cerros El Culiacán y La Gavia, cerro de los Amoles, cerro de Arandas); esto es, sólo seis ANP de 22 establecidas, lo que representa únicamente 27% del total (CONABIO, 2012).

TEORÍA

El término anfibio se deriva de la palabra griega *amphibios*, que significa “entre, o en dos vidas”. (Leyte-Manrique & Domínguez-Laso, 2014). También se refiere a los organismos que pasan una parte de su vida en ambientes acuáticos y otra en terrestres. Los anfibios (Clase Amphibia) son vertebrados que conforman tres grupos muy diferentes uno de otro: Ranas y sapos (orden Anura) presentan extremidades posteriores alargadas

especializadas para saltar, cuerpos cortos, sin cola, cabeza y ojos grandes; salamandras y tritones (Orden Caudata), tienen cuerpo alargado, con extremidades anteriores y posteriores pequeñas aproximadamente del mismo tamaño y cola larga; cecilias (Orden Gymnophiona), presentan cuerpo alargado, carecen de extremidades y tienen ojos muy reducidos, por lo que son organismos especializados para una vida subterránea. En general, son organismos de talla pequeña, y solo algunas especies de ranas y salamandras alcanzan grandes tamaños (Canseco & Gutiérrez, 2010).

En general, los anfibios requieren de cuerpos de agua para reproducirse. En especial, los anuros que poseen etapas larvianas estrictamente acuáticas (renacuajos). Estos cuerpos de agua pueden ser permanentes (ríos, lagunas, presas, etc.), así como temporales (arroyos, charcas); sin embargo, no es raro encontrar renacuajos en charcos temporales. Algunos anfibios y reptiles toleran las condiciones de áreas agrícolas o ganaderas, y sus poblaciones se han mantenido estables a pesar de las alteraciones ambientales o incluso se han incrementado en algunas zonas. Otros anfibios y reptiles no resisten la transformación de los ambientes naturales, sobre todo cuando ésta implica la destrucción del estrato arbóreo y la contaminación de los cuerpos de agua, como sucede frecuentemente. Las poblaciones de estas especies se encuentran en franca y alarmante disminución. Entre las especies que requieren de vegetación relativamente conservada para subsistir (Navarrete, 2006).

De acuerdo a la NOM-059-SEMARNAT-2010, el estado resguarda 18 especies amenazadas y 30 en protección especial, resultando un total de 47% del total de las especies. Existen seis especies exóticas en la entidad, aparentemente de reciente introducción. (Quintero-Díaz *et al.* 2012) mencionan cinco de ellas y su problemática. Aunado a ello, recientemente fue reportada la presencia de un ejemplar del sapo gigante *Rhinella marina* en Sierra Gorda (Campos- Rodríguez *et al.*, 2009), una de las especies invasivas más dañinas que existen, pero no solo en la Sierra Gorda sino también en el ANP “Las Musas” puesto que también se encuentra dentro de las especies reportadas que habitan ahí. Las diferentes especies de anuros que existen en el ANP “Las Musas”, que están registradas por el Instituto de Ecología del Estado (IEE) seis especies de anfibios las cuales son: *Lithobates neovolcanicus*, *Hyla eximia*, *Hyla arenicolor*, *Incilus occidentalis*, *Anaxyrus compactilis* y la *Rhinella marina* (DNR, 2014).

Los anfibios están sufriendo una declinación mundial debido a la destrucción del hábitat principalmente. Se han descubierto efectos del cambio climático global sobre todo en la declinación de las poblaciones de anfibios, el que ha influido sobre la dispersión de enfermedades emergentes con resultados catastróficos en las poblaciones naturales (Lips *et al.*, 2005). Algunas de estas enfermedades que presentan los anfibios son: *Trichodina*isis, Enfermedad de la mancha Blanca, Enfermedad de las ampollas de gas, Indigestión, Enfermedad de la pata y vientre roja, Parálisis, Enfermedad de la Piel pálida y Descomposición Intestinal.

PARTE EXPERIMENTAL

Descripción del sitio de estudio. El área natural protegida “Las Musas”, de competencia estatal y con categoría de Área de Uso Sustentable, tiene una superficie de 3,174.764 hectáreas; se ubica en el municipio de Manuel Doblado y es uno de los más bellos atractivos turísticos del municipio por su característica zona arbolada al lado del río Colorado. La zona de “Las Musas” se caracteriza por la existencia de un bosque de galería compuesto principalmente por ahuehuetes (*Taxodium moctezumae*) en diferentes etapas de desarrollo y con buen grado de conservación, encontrando también sabinos, fresnos y sauces; asimismo el ecosistema acuático cuenta con una alta diversidad de especies. (IEE, 2013) Para la realización del proyecto se ha realizado hasta el mes de enero, tres muestreos en seis puntos diferentes del ANP, donde se han capturado, medido, muestreado y liberado cada uno de los individuos a excepción de aquellos que se han encontrado muertos.

Muestreo. La captura de los anuros se realiza por métodos estándares como son los transectos nocturnos y diurnos, este consiste en caminar lentamente en tramos buscando ranas y sapos que se encuentren en el suelo, sobre las ramas u hojas. Luego de que son capturadas inmediatamente se debe de registrar en una bitácora la especie, temperatura cloacal, el sexo, edad, longitud, tipo de microhábitat, temperatura ambiental y del microhábitat, también fecha y hora en que fue capturado, tipo de vegetación donde fue encontrado, coordenadas geográficas, tipo de clima y donde se encontró, y a su vez con ayuda de un hisopo de algodón estéril se le toma una muestra a una parte de la piel de la zona cloacal para su análisis posterior.

Los análisis están siendo realizados en el laboratorio de Microbiología del Instituto Tecnológico Superior de Irapuato (ITESI), ubicado en la ciudad de Irapuato, Guanajuato. Los aislados de cada una de las muestras

recolectadas durante los muestreos son incubados en medio líquido TG (1% Triptona, 0.3% glucosa) a una temperatura de 23°C y de ahí son traspasados a un medio sólido que es el agar TGhL (1.6% Triptona, 4% gelatina hidrolizada, 0.5% lactosa, 1% agar) para así tener colonias definidas de cada una de las muestras.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se muestran las especies de anuros así como el número de individuos recolectados, muestreados y liberados de septiembre de 2016 a enero de 2017 en el ANP “Las Musas”, siendo la especie de *Lithobates neovolcanicus* la que más se ha encontrado en esta ANP, seguida de la *Hyla eximia*. Se puede observar también que a pesar que esta reportada como parte del ANP “Las Musas” la especie de *Rhinella marina* no se ha encontrado hasta el momento, en el sitio de estudio. El total de individuos registrados en los muestreos fue de 70, con diferentes ejemplares por cada especie, como se muestra en la Tabla 1. Del total registrado, *Lithobates neovolcanicus* representó el 35.7 %, seguido de *Hyla eximia* con el 28.57%. En contraste, *Anaxyrus compactilis* fue la especie menos representada con apenas el 4.31%

Tabla 1. Número de individuos recolectados de septiembre a enero en el ANP “Las Musas”

ESPECIE	NUMERO DE INDIVIDUOS RECOLECTADOS	% DEL TOTAL
<i>Lithobates neovolcanicus</i>	25	35.7%
<i>Hyla eximia</i>	20	28.57%
<i>Hyla arenicolor</i>	17	24.28%
<i>Incilus occidentalis</i>	5	7.14%
<i>Anaxyrus compactilis</i>	3	4.31%
<i>Rhinella marina</i>	0	0%
TOTAL	70	100%

En las siguientes Figuras 1, 2, 3, 4 y 5 se muestran las diferentes especies de anuros que existen en el ANP “Las Musas”.



Figura 1. *Lithobates neovolcanicus*



Figura 2. *Hyla eximia*



Figura 3. *Hyla arenicolor*



Figura 4. *Incilus occidentalis* (ANP “Las Musas”. Fotografía de Adrián Leyte Manrique)

Figura 5. *Anaxyrus compactilis* (ANP “Las Musas”. Fotografía de Adrián Leyte Manrique)

En la Tabla 2 se muestra el número de individuos enfermos encontrados en los meses de septiembre de 2016 a enero de 2017 en el ANP “Las Musas”. Las especies con mayor presencia de sintomatología de alguna enfermedad son *Lithobates neovolcanicus* con el 25.71%, *Hyla eximia* con 14.29%, *Hyla arenicolor* con 11.43%, *Incilus occidentalis* con 2.86% y siendo la menos afectada *Anaxyrus compactilis* con 1.42% debido a que ha sido la menos representada en este tiempo en el ANP. Además, en la Tabla 3 se muestra que el porcentaje de individuos encontrados muertos es de 5.7%. Aún falta por realizar pruebas adicionales de laboratorio para determinar la causa de la muerte de los individuos, por lo que fueron recolectados para posteriores estudios.

Tabla 2. Número de Individuos enfermos de cada especie y porcentaje que representa de un total de 59 individuos recolectados.

ESPECIE	NUMERO DE INDIVIDUOS ENFERMOS	% DE UN TOTAL DE 70
<i>Lithobates neovolcanicus</i>	18	25.71%
<i>Hyla eximia</i>	10	14.29%
<i>Hyla arenicolor</i>	8	11.43%
<i>Incilus occidentalis</i>	2	2.86%
<i>Anaxyrus compactilis</i>	1	1.42%
<i>Rhinella marina</i>	0	0%
TOTAL	39	55.71%

Tabla 3. Número de Individuos encontrados muertos de cada especie y porcentaje que representa de un total de 59 individuos recolectados.

ESPECIE	NUMERO DE INDIVIDUOS ENCONTRADOS MUERTOS	% DE UN TOTAL DE 70
<i>Lithobates neovolcanicus</i>	1	1.43%
<i>Hyla eximia</i>	3	4.28%
<i>Hyla arenicolor</i>	0	0%
<i>Incilus occidentalis</i>	0	0%
<i>Anaxyrus compactilis</i>	0	0%
<i>Rhinella marina</i>	0	0%
TOTAL	4	5.71%

Las siguientes Figuras 6, 7, 8 y 9 muestran las partes afectadas en algunos individuos que han presentado síntomas de alguna enfermedad. Por los síntomas presentados en el ejemplar de *H. eximia* mostrado en la Figura 7, el agente causal presuntivo es la bacteria *Aeromonas hydrophila*, mientras que en los demás ejemplares de las Figuras 6, 8 y 9, considerando las lesiones observadas, el agente causal presuntivo es el hongo *Batrachochytrium dendrobatidis*, aunque se hace énfasis en la necesidad de estudios microbianos adicionales que complementen y descarten o confirmen la presencia de esos como los microorganismos como agentes causales de las patologías mencionadas.



Figura 6. *Lithobates neovolcanicus*. Se puede observar que tiene pequeños puntos de color rojo en la zona cloacal



Figura 7. *Hyla eximia*
Se observa que tiene en las patas delanteras una inflamación en color rojo intenso.



Figura 8. *Hyla arenicolor*
Se observa que en la zona del vientre contiene pequeños puntos de color rojo así como una coloración violácea en la parte baja del vientre.



Figura 9. *Hyla eximia*
Se observa que en la zona del vientre contiene una coloración de color café que baja hasta la zona cloacal.

CONCLUSIONES

Es importante tener un conocimiento completo de las especies de anuros que existen en el ANP “Las Musas” y así mismo en el estado de Guanajuato, con la finalidad de conocer a profundidad a estas especies y su declive debido ya sea a la contaminación hecha por el ser humano al alterar su hábitat o de algún agente patógeno causante de aquellas enfermedades que van debilitando a los cuerpos de las diferentes especies que existen en esta ANP. Es importante mantener vigilados a estos pequeños organismos ya que son parte importante para el ecosistema y para mantener el equilibrio en este.

Por otro lado se debe de seguir estudiando a fondo a los agentes patógenos causantes de las enfermedades de los anuros para tener un registro detallado y reportar con exactitud aquellas enfermedades que se pueden encontrar en el ANP “Las Musas”.

BIBLIOGRAFÍA

1. Adrián Leyte Manrique & Matías Domínguez Laso. (2014) Guía de los Anfibios y Reptiles de Charco Azul, Xichú, Guanajuato. Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, con apoyo de la Sociedad Herpetológica Mexicana A.C. Distrito Federal. Primera edición
2. Campos-Rodríguez, J.I., L. Chambert, M. del Carmen Díaz (2004). “Geographic Distribution: *Leptodeira septentrionalis septentrionalis*”, *Herpetological Review*
3. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). 2012. La biodiversidad en Guanajuato: Estudio de Estado. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO)/Instituto de Ecología del Estado de Guanajuato (IEE). México. Primera Edición. Volumen II.

4. Dirección de Recursos Naturales (DNR). 2014. Inventario de fauna silvestre de las Áreas Naturales Protegidas en Guanajuato. Gobierno del Estado de Guanajuato: Instituto de Ecología del Estado. Guanajuato, México
5. Instituto de Ecología del Estado (IEE). (28 de Junio de 2013). Programa Manejo del Área Natural Protegida denominada "Las Musas", en la Categoría de Área de Uso Sustentable. Recuperado el 01 de Abril de 2017, de : http://uai.guanajuato.gob.mx/biblioteca_digital/docart10/200804301705380.13.-Decla.Las%20Musas.pdf
6. Jorge Brambila Navarrete. (2006). "Métodos y Técnicas de Manejo y Conservación para Anfibios y Reptiles en campo: análisis, evaluación y aprovechamiento sustentable en México". Manual de Anfibios y Reptiles.
7. Lips, k. R., p. A. Burrowes, J. R. Mendelson , & G. Parra-Olea. 2005. Amphibian declines in Latin America: widespread population declines, extinctions, and impacts. Biotropica
8. Luis Canseco Márquez & María Guadalupe Gutiérrez Mayén. (2010). Anfibios Y Reptiles Del Valle De Tehuacancuicatlan. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). Primera Edición.
9. Quintero-Díaz, G.E., J.A. Berlín-Diosdado y L.A. López- Carreón. 2012. "Anfibios y reptiles exóticos en Guanajuato", en *La Biodiversidad en Guanajuato: Estudio de Estado*. México. CONABIO/IEE.
10. Santos Barrera, G. 2004. Enfermedades infecciosas y su papel en la declinación mundial de las poblaciones de anfibios. CONABIO. Biodiversitas.

EXTRACTOS VEGETALES COMO AGENTES REDUCTORES EN LA RECUPERACIÓN DE LA PLATA METÁLICA CONTENIDA EN LAS PLACAS RADIOGRÁFICAS

Dulce María Torres Mentado, Lidia Meléndez Balbuena, Sandra Guadalupe Nolasco Morales, Ismael Soto López.

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. dullceetorress@hotmail.com

RESUMEN

La plata que, desde el punto de vista químico, es uno de los metales pesados y nobles y desde el punto de vista comercial, es un metal precioso, es un elemento bastante escaso, algunas veces se encuentra en la naturaleza como elemento libre (plata nativa) o mezclado con otros metales. Su importancia en aplicaciones fotográficas es fundamental, por sus propiedades únicas es utilizado en la elaboración de las placas radiográficas. En este sentido recuperar la plata de las actividades fotográficas y en especial de las películas radiográficas ofrecen un interés primordial. En este trabajo se presentan resultados correspondientes a un proyecto cuyo objetivo es recuperar la plata metálica contenida en las placas radiográficas a través de una metodología verde, empleando los extractos vegetales del diente de león, perejil, y te negro. El empleo de este tipo de plantas, cuya elección viene motivada por su alta disponibilidad y amplia distribución geográfica, no solo evita utilizar agentes reductores químicos en muchos casos caros y tóxicos, sino que también resulta un método más económico y ecológico. Extractos vegetales que poseen propiedades antioxidantes debido a que contienen polifenoles, sustancias responsables de su actividad antioxidante. A este tipo de compuestos se le atribuye el poder reductor de iones metálicos. Se presentan los resultados obtenidos del estudio comparativo con respecto al rendimiento y calidad de la plata obtenida utilizando cada uno de los extractos acuosos de los vegetales.

INTRODUCCIÓN

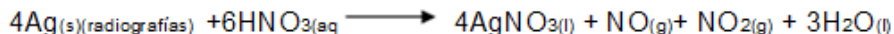
La plata es un metal precioso, su símbolo es Ag, procede del latín: argentum, "blanco" o "brillante". Es un metal de transición blanco, brillante, blando, dúctil, maleable. Se encuentra en la naturaleza formando parte de distintos minerales (generalmente en forma de sulfuro) o como plata libre. La plata es el metal con mayor conductividad eléctrica, esto significa que la corriente eléctrica puede circular fácilmente por su superficie. La plata que, entre otros usos, se utiliza en fotografía, en joyería, monedas, se alea con otros metales para hacerlos más duros y duraderos, como plata coloidal, se usa en medicina como antiséptico y bactericida, los haluros de plata son sensibles a la luz y se usan en emulsiones para placas y películas radiográficas, por mencionar algunos de sus importantes usos (Brown, 1997).

La plata es un recurso natural cuya demanda actual es mayor que su producción, siendo la industria fotográfica la mayor usuaria de la plata en el mundo, debido a que es única en su habilidad para reaccionar con la luz y producir imágenes en aplicaciones tales como la fotografía y radiografías (rayos X), ningún otro elemento metálico posee estas propiedades, de tal forma que es importante rescatar este metal antes de que se pierda en el ambiente. Puede afirmarse que la plata contenida en las radiografías va a parar a los ríos y mares, plata que se enjuaga de las películas radiográficas que toman los servicios de radiología en todos los hospitales del mundo. Una vez que se diluye es muy difícil de recuperar la plata. Por lo tanto, es más seguro y más fácil recuperarla en el laboratorio, en la actual existen diversos métodos analíticos para su recuperación, sin embargo, son utilizados reactivos químicos costosos y tóxicos para el medio ambiente (Cabrero, 2004). En este trabajo se presentan resultados correspondientes a un proyecto cuyo objetivo es recuperar la plata metálica contenida en las placas radiográficas a través de una metodología verde, empleando los extractos vegetales del Diente de león, Perejil, y Te negro. El empleo de este tipo de plantas, cuya elección viene motivada por su alta disponibilidad y amplia distribución geográfica, no solo evita utilizar agentes reductores químicos en muchos casos caros y tóxicos, sino que también resulta un método más económico y ecológico. Extractos vegetales que poseen propiedades antioxidantes debido a que contienen polifenoles, sustancias responsables de su actividad antioxidante. A este tipo de compuestos se le atribuye el poder reductor de iones metálicos (Ignat, et al, 2011; Naczk, 2006).

PARTE EXPERIMENTAL

Tratamiento de las placas radiográficas.

La parte experimental inicia con el tratamiento de tres muestras, cada una de 200 g, las placas radiográficas, son tratadas ácido nítrico con la finalidad de extraer la plata en la disolución en forma de nitrato de plata, La formación del nitrato de plata es comprobado con la adición de unas gotas de cromato potásico, que reacciona con los cationes de plata disueltos, formándose un precipitado de color rojo correspondiente al cromato de plata Ag_2CrO_4 (Charlot, 1971). La ecuación 1 muestra la reacción química y la figura 1 el proceso químico.



1



Figura1. Digestión ácida de las placas radiográficas

Formación del AgCl

La plata se encuentra en medio ácido y en forma de nitrato de plata, a esta solución resultante se le adiciona NH_4Cl : el $AgCl$ plata formado se separa decantando la solución y se lleva a sequedad para ser tratado posteriormente, ver ecuación 2. La cantidad de cloruro de plata obtenida en promedio fue de 1.7394 g, por 200 g de radiografías en 300 ml de ácido nítrico 30%.



La tabla 1, muestra la cantidad de cloruro de plata obtenido de cada una de las muestras.

Radiografías 200 g	AgCl obtenido (g)
Muestra 1	1.8209
Muestra 2	1.6389
Muestra 3	1.7586
Promedio	1.73946

Tabla1. Cantidad de cloruro de plata obtenida de 200 g de radiografías

Como es de esperarse la cantidad de cloruro de plata obtenido en los tres casos no es la misma debido a que la cantidad de plata, depende de las condiciones de la placa radiográfica utilizada. El cloruro de plata obtenido fue utilizado en la formación del complejo diaminoargentato (I), adicionándole de forma cualitativa amoníaco al 30% en dilución con agua destilada, y mejorando las condiciones de reacción aumentando la temperatura. Ecuación 3.



Preparación de los extractos

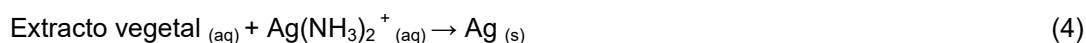
La elaboración de extractos Diente de león, Perejil, y Té negro se llevó a cabo para cada especie mediante un proceso de extracción sólido-líquido, en las mismas condiciones de temperatura, tiempo de contacto y proporción masa-disolvente. Como disolvente se empleó agua, la cual tiene una elevada capacidad de extracción de polifenoles y no presenta toxicidad alguna. Se obtienen los extractos por contacto de 1 g del vegetal seco con 100 mL de agua, calentando hasta tener un volumen de 70 mL, tras el cual se obtiene el extracto líquido por filtración. Los extractos se almacenan a 4°C. Figura 2.



Figura 2. Extractos vegetales

RECUPERACIÓN DE LA PLATA

Para el estudio de la calidad de plata recuperada y su mejor rendimiento utilizando cada uno de los extractos vegetales Diente de león, Perejil y Té negro como agentes reductores de la plata, se partió de 0.500 gramos de cloruro de plata, el cual como se indicó anteriormente fue tratado con hidróxido de amonio con la finalidad de obtener el diamminplata, al cual se le adicionaron los extractos vegetales. El $Ag(NH_3)_2^+$ es un oxidante muy débil que reacciona lentamente con el extracto vegetal originando que los iones plata se reduzcan simultáneamente a plata metálica depositándose en el fondo del recipiente. Ecuación 4.



La plata obtenida, fue filtrada del sobrenadante, se lavó varias veces con agua destilada y finalmente fue pesada. Como puede observarse en la figura 3, por esta técnica se obtiene una plata limpia con aspecto brillante y limpia. La figura 3 muestra la plata obtenida utilizando los extractos vegetales.



Figura 3. Plata metálica.

En la tabla 2 aparecen las cantidades de plata recuperada utilizando cada uno de los extractos a partir de 0.5 g de AgCl.

Tabla 2. Cantidad de plata recuperada por 0.5g de AgCL con cada uno de los extractos.

AgCl (gramos)	Extracto Vegetal (5ml)	Promedio de Plata recuperada (gramos)
0.5	Diente de león	0.4390 g
0.5	Té negro	0.3478g
0.5	Perejil	0.46976g

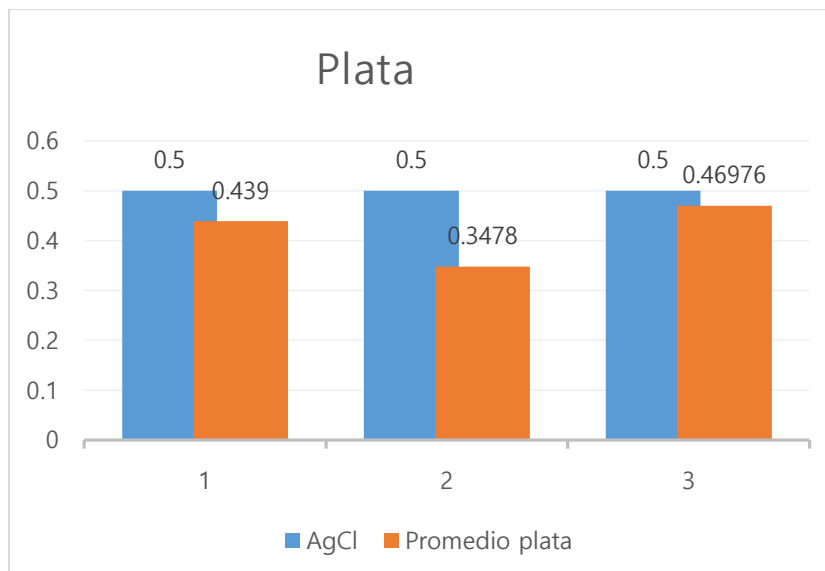


Grafico 1. Cantidad de plata recuperada por 0.5 g de AgCl con los diferentes extractos. 1) Diente de león, 2) Té Negro y 3) Perejil

El grafico muestra los resultados obtenidos relacionados con la cantidad de plata obtenida con cada uno de los extractos utilizados, presentando un mejor resultado en cantidad de plata obtenida el extracto de perejil.

CONCLUSIONES

El uso de extractos vegetales acuosos en la recuperación de la plata contenida en las placas radiográficas resulta una opción eficiente de bajo costo y amigable con el medio ambiente que se enmarca en la denominada *química verde*. Este método de síntesis ofrece vastas posibilidades teniendo en cuenta la gran diversidad de plantas con amplio rango de metabolitos que incluye agentes reductores y estabilizantes en su composición.

Se logró obtener plata limpia y brillante, con un rendimiento aceptable, utilizando el extracto de Té negro, perejil y Diente de León como agentes reductores de la plata.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Brown T. L, et al, "Química. La ciencia central". Pearson Prentice-Hall. México, 1997.
- [2] F. J. Cabrero Fraile. Imagen radiológica: principios físicos e instrumentación. [1] Primera edición. Elsevier España, Editorial Masson. (2004)
- [3] Torrent Burgués J. Química fotográfica, 2001. 1ª ed. UPC, Universidad Politécnica de Catalunya, S.L.
- [4] López-Iturbe, A.R Vilchis- Néstor A. R.*, V. Sánchez- Mendieta ., B. Avalos . Superficies y Vacío **26(3)** 73-78, septiembre de 2013 ©Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de Superficies y Materiales
- [5] Naczki, M.; Shahidi, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. J. Pharm. Biomed. Anal. 2006, 41, 1523-1542.
- [6] Ignat, I.; Volf, I.; Popa, V.I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. Food Chem. 2011, 126, 1821-1835.
- [7] Charlot G. *Química Analítica General*, Editorial Toray Masson ,1971.
- [8] J. S. Phillips, S. Strozak . et al. Química conceptos y aplicaciones. Mc Graw- Hill. México. (2000).

MODELAMIENTO MOLECULAR DE LA PROTEÍNA MRPA DEL ARQUEA *METHANOSARCINA ACETIVORANS*

César Díaz Pérez, María del Refugio Vázquez Banda, Patricia Castro Moreno, María Isabel García Vieyra, Rafael Alejandro Veloz García y Alma Laura Díaz Pérez

Universidad de Guanajuato. Campus Celaya-Salvatierra.
Unidad de Biomedicina. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México.
Instituto de Investigaciones Químico Biológicas. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

RESUMEN

Methanosarcina acetivorans es una arquea productora de metano. Las proteínas MrpA son homólogas de NuoL del complejo I de la cadena respiratoria. *M. acetivorans* se posee una proteína MrpA, esencial para la síntesis de ATP y la producción de metano. Para conocer más sobre el mecanismo de acción de esta proteína, en este trabajo se modeló in-silico la proteína MrpA completa. Para modelar los dos dominios de la proteína se hizo un modelo preliminar de cada dominio con el servidor I-TASSER. Los modelos preliminares fueron usados como moldes para generar el modelo final con el programa Modeller. El modelo de los dominios de la proteína MrpA mostró que el extremo carboxilo corresponde a la subunidad J del complejo I, mientras el dominio amino tiene la estructura de la proteína transmembranal NuoL, que es la subunidad L del complejo I. NuoL tiene una extensión de 100 Å que le sirve de interconexión con las subunidades NuoM y NuoN del complejo, en MrpA es de 70 Å, ya que en *M. acetivorans* solo tiene un gen homólogo (MrpD). Se observó que se conservan los segmentos transmembranales esenciales para el transporte (TM5, TM7, TM8 y TM12). Los residuos cargados clave están conservados (K402, H252, K227 y E141). Además se localizó el túnel cargado por donde se lleva a cabo el antiporte de protones, formado por los residuos H252, K347, H343, T310, S253, R112, E141, S147, T171, K227, T255; S309, S312, Y316, H339, S401, K402, E403, T439, Y442 y S443.

INTRODUCCIÓN

Los antiportadores de cationes/protones son importante y están ampliamente distribuidos en los organismos de los tres dominios filogenéticos (*Bacteria*, *Archaea* y *Eukarya*) de la vida. Los antiportadores de procariontes son transportadores secundarios que requieren un gradiente electroquímico de protones, donde la mayor concentración de protones está fuera del citoplasma, regulando la homeostasis de cationes. La mayoría de los antiportadores son monómeros, sin embargo, la familia de cationes/protones 3, también llamada familia Mrp, está compuesta por complejos de seis o siete subunidades (1-3).

Los análisis genómicos muestran que los complejos Mrp presentan diversas fisiologías en bacterias y arqueas. En bacterias los complejos Mrp han sido implicados en diversas funciones como que incluyen antiporte de Na^+/H^+ (2-8), antiporte de K^+/H^+ (9), homeostasis de pH (7, 10, 11), Resistencia a sales biliares (7, 12), oxidación de arsenito (8), patogénesis (12, 13) y conservación energética (14, 15).

En los genomas de arqueas también se han encontrado complejos Mrp, de los cuales el único estudiado es el complejo de siete subunidades MrpA-G del arquea metanogénica *Methanosarcina acetivorans*, donde se ha visto que está implicada en la síntesis de ATP (15).

MrpA y MrpD son proteínas homólogas las subunidades proteicas antiportadoras NuoL and NuoM/N, respectivamente, del complejo respiratorio I de los dominios *Bacteria* y *Eukarya* (16-18). Además, NuoL y NuoN pueden suplir la función de las proteínas MrpA y MrpD en *Bacillus* (18). La estructura recientemente reportada del Complejo I remarca la similaridad de MrpA y MrpD con las subunidades NuoLMN (19). También se ha propuesto que las subunidades del complejo Mrp surgieron de un ancestro similar al Complejo I (20). Si bien las subunidades MrpA y MrpD han sido implicadas en la translocación de Na^+ y H^+ , y (2, 3, 11, 18, 21, 22), la falta de una estructura de los complejos Mrp ha causado que no se tenga un conocimiento detallado del mecanismo de antiporte. En este trabajo se reporta el modelaje molecular de la proteína MrpA, y un posible mecanismo de la función de esta proteína.

PARTE EXPERIMENTAL

Modelado molecular de los dominios MrpA_L y MrpA_J de la proteína MrpA de *M. acetivorans*. La proteína MrpA se modeló en dos partes. El modelo del extremo amino, MrpA_L (608 aa) se construyó en (23) usando a la subunidad NuoL (pdb: 3RKO) del Complejo I de *E. coli*, y un modelo preliminar construido en el servidor I-TASSER (24).

El modelo del dominio carboxilo, MrpA_J (), se construyó en el servidor I-TASSER, posteriormente dicho modelo fue refinado usando el programa Modeller 9v12.

Los modelos fueron validados en el programa Procheck 3.5 (25). Las figuras fueron generadas con el programa PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.2r1, Schrödinger, LLC.

RESULTADOS

Para poder establecer un posible mecanismo de la función de la proteína MrpA de *M. acetivorans*, y dado que no existe un cristal disponible de esta estructura, se intentó construir un modelo molecular por homología, sin embargo, no se encontró un molde adecuado para este fin.

Analizando la secuencia de la proteína MrpA, se observó que el extremo amino y el extremo carboxilo de la misma se parecían a la subunidad L y J del complejo I de *E. coli*, respectivamente, por lo que se decidió construir dos modelos independientes que recrearan por completo a la proteína MrpA. La geometría de los modelos fue verificada usando los valores de los ángulos ϕ y ψ , obteniendo que todos los valores de los ángulos se ubicaban en las zonas permitidas de las respectivas gráficas de Ramachandran (Tabla 1), por lo que este análisis indica que los modelos son suficiente válidos para usarlos en un análisis estructural.

El modelo MrpA_J consta de 14 segmento transmembranales (TM), y un dominio, llamado "pistón", que le sirve para interactuar con MrpD. MrpA_J consta de 5 TM. Con los modelos generados se recreó la posible subestructura de antiporte del complejo Mrp de *M. acetivorans* (Figura 1A). Al comparar la estructura del complejo Mrp con el complejo I (Figura 1) se observa que el dominio de unión llamado pistón, del Complejo I es 30 Å más largo, esto concuerda con que MrpA solo interactúa con una subunidad mientras NuoL interactúa con dos (19).

El modelo de MrpA proporciona suficiente información para proponer un posible mecanismo de translocación (Figura 2). El modelo del dominio J muestra un eje de simetría característico de este tipo de antiportadores, donde el canal se forma por dos sub-cavidades, una de cara al citoplasma (canal 1), formada por los TM 5 y 7, y otra de cara al periplasma (canal 2), formada por los TM 8 y 12. Los residuos cargados clave, E141, K227, H252 y K402 (numerados usando la secuencia de MrpA), que se ha visto son esenciales para la función de NuoL (26), se encuentran conservados en MrpA (Figura 2A). Al igual que en NuoL, el modelo de MrpA muestra tres cavidades formadas por residuos polares y cargados. La cavidad citoplasmática está formada por los residuos R112, E141, S147, T171, K227 y T255. La cavidad periplasmática la forman los residuos S309, S312, Y316, H339, S401, K402, E403, T439, Y442, y S443. Las dos cavidades están unidas por un canal central, formado por los residuos conservados H252, K347, H343, T310 y S253. También se observó que se encuentra conservado el motivo del TM8, 251-LHSATM-256, de MrpA que sirve de unión a los canales 1 y 2. Los TM 7 y 12 de MrpA son interrumpidos por las prolinas 232 y 394, lo que permite que ambas hélices tengan flexibilidad y puedan permitir cambios estructurales en el dominio pistón que son necesarios para el transporte de los iones [19].

Se observó que en el modelo de MrpA un parche cerca de la cara citoplasmática del canal 1, formado por los residuos cargados negativamente D109, E108 y E156, en los TM 4 y 5, este parche corresponde a la entrada citoplasmática de de NuoL (19), por lo que es posible que este parche es el posible sitio de entrada de iones de la cavidad citoplasmática. Además de se encontró un segundo parche citoplasmático negativo, formado por los residuos E360, E375, E454, D458, y D460, en el TM 12. Este parche es de mayor tamaño y no puede ser descartado como la entrada del canal 1. En la cara periplasmática también se localizó la posible superficie de interacción, formada por los residuos E327, E411, E414 y D510, por lo que se predice que participan en la

translocación de iones. Finalmente, los residuos cargados conservados D542, D553, D563 y D565 del dominio pistón también pueden estar involucrados en el transporte (27).

Tabla 1.- Comparación y datos de la calidad estructural de la gráfica de Ramachandran de los modelos de la proteína MrpA.

Dominio	Ángulos de los enlaces peptídicos por zonas (%)			
	Core	Allowed	General	Disallowed
MrpA_L	91.6	6.9	1.5	0.0
MrpA_J	93.0	5.7	1.7	0.0

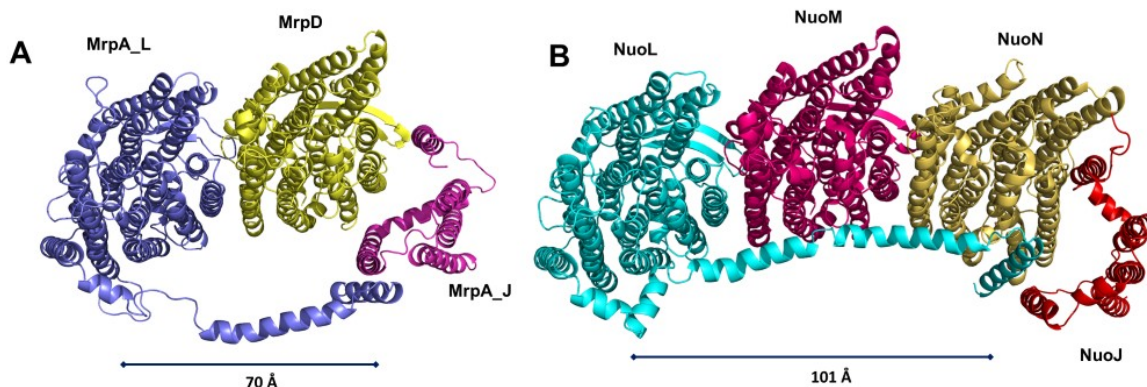


Figura 1. Modelo de las subunidades membranales de los complejos respiratorios I. A) Complejo respiratorio I de *E. coli* (3RKO), donde tres proteínas antiportadoras, NuoL, NuoM, NuoN, interaccionan con la subunidad NuoJ. Las proteínas antiportadoras están unidas por el dominio pistón que es parte de la subunidad NuoL. B) En el modelo del complejo Mrp de *M. acetivorans*, este solo cuenta con dos proteínas parecidas a antiportadores, MrpA y MrpD, por lo que el dominio pistón de MrpA es de menor extensión que el de NuoL. En contraparte, MrpA contiene un dominio extra, que es semejante a la subunidad NuoJ.

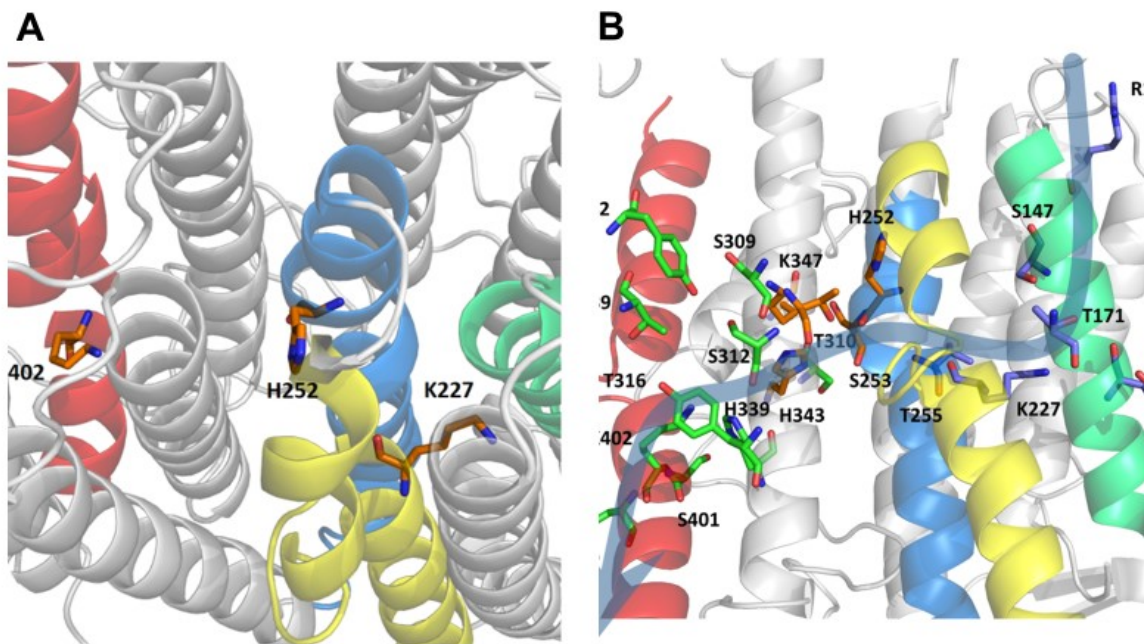


Figura 2. Residuos importantes conservados en la función de MrpA. A) Se muestra el eje central de la proteína MrpA de *M. acetivorans* con los residuos ionizables, E141, K227, H252 y K402, mostrados en forma de

líneas naranjas. B) Se muestran los residuos polares y cargados que forman las dos mitades hidrofílicas del túnel del citoplasma al periplasma de la proteína MrpA. El túnel de paso de protones está formado por una cavidad citoplasmática (residuos en color azul), un canal de interconexión (residuos en color naranja) y una cavidad periplasmática principal (residuos en color verde). Se muestran en colores los TM principales que forman el túnel, TM 5 (verde), 7 (amarillo), 8 (azul) y 12 (rojo). La posible ruta de translocación de protones se muestra con la flecha azul.

CONCLUSIONES

El primer modelo de la proteína MrpA de arqueas revela similitudes y diferencias con las proteínas de origen bacteriano, lo que indica la existencia de un posible ancestro común, y la posterior especialización de ambos linajes. Se puede proponer un mecanismo de transporte en los complejos Mrp de arqueas donde MrpAD cataliza el antiporte de Na^+/H^+ , además de la localización y conservación de los residuos importantes para esta función en los dominios *Bacteria* y *Archaea*.

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto se llevó a cabo gracias al financiamiento DAIP-Universidad de Guanajuato, proyectos 979/2016 y 169/2016.

BIBLIOGRAFÍA

1. Swartz, T.H., S. Ikewada, O. Ishikawa, M. Ito, y T.A. Krulwich, "The Mrp system: a giant among monovalent cation/proton antiporters?", *Extremophiles*. Vol. 9, 5, 2005, pp. 345-54.
2. Morino, M., T. Suzuki, M. Ito, y T.A. Krulwich, "Purification and functional reconstitution of a seven-subunit Mrp-type Na^+/H^+ antiporter", *J. Bacteriol.*, Vol. 196, 2014, pp. 28-35.
3. Kajiyama, Y., M. Otagiri, J. Sekiguchi, S. Kosono, y T. Kudo, "Complex formation by the *mrpABCDEFG* gene products, which constitute a principal Na^+/H^+ antiporter in *Bacillus subtilis*", *J. Bacteriol.*, Vol. 189, 20, 2007, pp. 7511-7514.
4. Swartz, T.H., M. Ito, T. Ohira, S. Natsui, D.B. Hicks, y T.A. Krulwich, "Catalytic properties of *Staphylococcus aureus* and *Bacillus* members of the secondary cation/proton antiporter-3 (Mrp) family are revealed by an optimized assay in an *Escherichia coli* host", *J. Bacteriol.*, Vol. 189, 8, 2007, pp. 3081-90.
5. Morino, M., S. Natsui, T. Ono, T.H. Swartz, T.A. Krulwich, y M. Ito, "Single site mutations in the hetero-oligomeric Mrp antiporter from alkaliphilic *Bacillus pseudofirmus* OF4 that affect Na^+/H^+ antiport activity, sodium exclusion, individual Mrp protein levels, or Mrp complex formation", *J. Biol. Chem.*, Vol. 285, 2010, pp. 30942-30950.
6. Ito, M., A.A. Guffanti, y T.A. Krulwich, "Mrp-dependent Na^+/H^+ antiporters of *Bacillus* exhibit characteristics that are unanticipated for completely secondary active transporters", *FEBS Lett.*, Vol. 496, 2-3, 2001, pp. 117-120.
7. Ito, M., A.A. Guffanti, B. Oudega, y T.A. Krulwich, "*mrp*, a multigene, multifunctional locus in *Bacillus subtilis* with roles in resistance to cholate and to Na^+ and in pH homeostasis", *J. Bacteriol.*, Vol. 181, 8, 1999, pp. 2394-2402.
8. Kashyap, D.R., L.M. Botero, C. Lehr, D.J. Hassett, y T.R. McDermott, "A $\text{Na}^+:\text{H}^+$ antiporter and a molybdate transporter are essential for arsenite oxidation in *Agrobacterium tumefaciens*", *J. Bacteriol.*, Vol. 188, 4, 2006, pp. 1577-1584.
9. Putnoky, P., A. Kereszt, T. Nakamura, G. Endre, E. Grosskopf, P. Kiss, y A. Kondorosi, "The pha gene cluster of *Rhizobium meliloti* involved in pH adaptation and symbiosis encodes a novel type of K^+ efflux system", *Mol. Microbiol.*, Vol. 28, 6, 1998, pp. 1091-1101.
10. Blanco-Rivero, A., F. Leganes, E. Fernandez-Valiente, P. Calle, y F. Fernandez-Pinas, "*mrpA*, a gene with roles in resistance to Na^+ and adaptation to alkaline pH in the cyanobacterium *Anabaena* sp. PCC7120", *Microbiology*. Vol. 151, Pt 5, 2005, pp. 1671-1682.
11. Ito, M., A.A. Guffanti, W. Wang, y T.A. Krulwich, "Effects of nonpolar mutations in each of the seven *Bacillus subtilis* *mrp* genes suggest complex interactions among the gene products in support of Na^+ and alkali but not cholate resistance", *J. Bacteriol.*, Vol. 182, 20, 2000, pp. 5663-70.

12. Dzioba-Winogradzki, J., O. Winogradzki, T.A. Krulwich, M.A. Boin, C.C. Hase, y P. Dibrov, "The *Vibrio cholerae* Mrp system: cation/proton antiporter properties and enhancement of bile salt resistance in a heterologous host", *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.*, Vol. 16, 2008, pp. 176-186.
13. Kosono, S., K. Haga, R. Tomizawa, Y. Kajiyama, K. Hatano, S. Takeda, Y. Wakai, M. Hino, y T. Kudo, "Characterization of a multigene-encoded sodium/hydrogen antiporter (Sha) from *Pseudomonas aeruginosa*: its involvement in pathogenesis", *J. Bacteriol.*, Vol. 187, 15, 2005, pp. 5242-5248.
14. Blanco-Rivero, A., F. Leganes, E. Fernandez-Valiente, y F. Fernandez-Pinas, "*mrpA* (all1838), a gene involved in alkali and Na⁺ sensitivity, may also have a role in energy metabolism in the cyanobacterium *Anabaena* sp. strain PCC 7120", *J. Plant Physiol.*, Vol. 166, 2009, pp. 1488-1496.
15. Jasso-Chavez, R., E.E. Apolinario, K.R. Sowers, y J.G. Ferry, "MrpA functions in energy conversion during acetate-dependent growth of *Methanosarcina acetivorans*", *J. Bacteriol.*, Vol. 195, 17, 2013, pp. 3987-3994.
16. Baradaran, R., J.M. Berrisford, G.S. Minhas, y L.A. Sazanov, "Crystal structure of the entire respiratory complex I", *Nature*. Vol. 494, 7438, 2013, pp. 443-448.
17. Mathiesen, C. y C. Hagerhall, "Transmembrane topology of the NuoL, M and N subunits of NADH:quinone oxidoreductase and their homologues among membrane-bound hydrogenases and bona fide antiporters", *Biochim. Biophys. Acta*. Vol. 1556, 2-3, 2002, pp. 121-132.
18. Moparthy, V.K., B. Kumar, Y. Al-Eryani, E. Sperling, K. Gorecki, T. Drakenberg, y C. Hagerhall, "Functional role of the MrpA- and MrpD-homologous protein subunits in enzyme complexes evolutionary related to respiratory chain complex I", *Biochim. Biophys. Acta*. Vol. 1837, 1, 2014, pp. 178-185.
19. Efremov, R.G. y L.A. Sazanov, "Structure of the membrane domain of respiratory complex I", *Nature*. Vol. 476, 7361, 2011, pp. 414-420.
20. Mathiesen, C. y C. Hagerhall, "The 'antiporter module' of respiratory chain complex I includes the MrpC/NuoK subunit -- a revision of the modular evolution scheme", *FEBS Lett.*, Vol. 549, 1-3, 2003, pp. 7-13.
21. Moparthy, V.K., B. Kumar, C. Mathiesen, y C. Hagerhall, "Homologous protein subunits from *Escherichia coli* NADH:quinone oxidoreductase can functionally replace MrpA and MrpD in *Bacillus subtilis*", *Biochim. Biophys. Acta.*, Vol. 1807, 4, 2011, pp. 427-436.
22. Morino, M., S. Natsui, T.H. Swartz, T.A. Krulwich, y M. Ito, "Effect of single gene deletions of *mrpA-G* and *mrpE* point mutations on activity of the Mrp Na⁺/H⁺ antiporter of alkaliphilic *Bacillus* and formation of hetero-oligomeric Mrp complex", *Biochim. Biophys. Acta* Vol. 1777, 2008, pp. S26-S27.
23. Šali, A. y T.L. Blundell, "Comparative protein modelling by satisfaction of spatial restraints", *Journal of molecular biology*. Vol. 234, 3, 1993, pp. 779-815.
24. Zhang, Y., "I-TASSER server for protein 3D structure prediction", *BMC bioinformatics*. Vol. 9, 1, 2008, pp. 40.
25. 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.
26. Nakamaru-Ogiso, E., M.C. Kao, H. Chen, S.C. Sinha, T. Yagi, y T. Ohnishi, "The membrane subunit NuoL(ND5) is involved in the indirect proton pumping mechanism of *Escherichia coli* complex I", *J. Biol. Chem.*, Vol. 285, 50, 2010, pp. 39070-39078.
27. Steimle, S., M. Willistein, P. Hegger, M. Janoschke, H. Erhardt, y T. Friedrich, "Asp563 of the horizontal helix of subunit NuoL is involved in proton translocation by the respiratory complex I", *FEBS letters*. Vol. 586, 6, 2012, pp. 699-704.

CULTIVO INTERCALAR DE ZANAHORIA (*Daucus carota* L.) Y MILENRAMA (*Achilea mellifolium* L.)

Eira Guzmán Estrella, Ma. Socorro Orozco Almanza, Roberto Ramos González y María de Jesús Rojas Cortés

FES Zaragoza, UNAM.

RESUMEN

La milenrama es una planta milenaria, que se utiliza con fines medicinales, y que en la Agricultura Biodinámica, se considera una planta mejoradora de la fertilidad del suelo, ya que favorece la condición de potasio y de azufre. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la milenrama en el rendimiento de zanahoria intercalada, como una respuesta al mejor contenido de potasio en el sustrato. Los resultados obtenidos, demostraron que es posible cultivar estas dos especies sin afectar su rendimiento/ área, ni el tamaño y peso de la zanahoria. Por otro lado la milenrama intercalada con la zanahoria, mejoró el contenido de potasio del sustrato, después de tres meses de cultivo, lo cual resultó favorable para el desarrollo y rendimiento del cultivo de la zanahoria.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, la zanahoria es el cultivo hortícola de raíz más importante. La raíz engrosada se consume cruda, hervida o procesada en jugos, ensaladas y conservas (Morales, 1995).

La zanahoria de color anaranjado destaca por su gran contenido de carotenos, especialmente provitamina A, eficaz antioxidante con propiedades anticancerígenas, cicatrizante intestinal, diurética y astringente. Además, aporta energía por su alto contenido de hidratos de carbono. Al tratarse de una raíz, absorbe los nutrientes y los asimila en forma de azúcares. También es fuente de vitamina E y de vitaminas del complejo B, como los folatos y la vitamina B3 o niacina. Destaca el aporte de potasio, fósforo, magnesio, yodo y calcio. El potasio es necesario para la transmisión y generación del impulso nervioso y la actividad muscular normal. La vitamina E ayuda en la estabilidad de las células sanguíneas y en la fertilidad, además de tener acción antioxidante. La niacina o vitamina B3 colabora en el funcionamiento del sistema digestivo, el buen estado de la piel, el sistema nervioso y en la conversión de los alimentos en energía (Kehr y Bórquez, 2010).

Pero cuando se trata de zanahoria para industria, se requiere obtener un alto tonelaje por hectárea, y con ello el uso ineficiente de los fertilizantes, traducido como suministro excesivo de elementos químicos a los suelos de cultivo, y esto ha sido señalado a través del tiempo, como contaminante de las áreas de producción agrícolas del mundo y tal situación, es más evidente en regiones de agricultura intensiva (Añez y Espinoza, 2002).

Los productores regularmente aplican grandes cantidades de fertilizantes nitrogenados para obtener altos rendimientos de productos de buena calidad. Esto puede ser sano desde una perspectiva económica, pero no desde el punto ambiental. A menudo grandes cantidades de nitrógeno permanecen en el suelo después de la cosecha, las cuales pueden afectar la calidad del agua y del suelo, mediante la percolación de nitratos y la calidad de aire por emisión de óxido nitroso (Añez y Espinoza, 2002).

Una alternativa para estos problemas es la "Agricultura Ecológica" o "Agricultura Sostenible" que se manifiesta en los esfuerzos del hombre por incrementar o mantener rendimientos adecuados de los cultivos, reduciendo los insumos energéticos y adoptando técnicas agrícolas que no dañen al ambiente. Recientemente la investigación ha enfocado su atención en ecotecnologías, tales como: labranza reducida, aplicación de estiércol, rotación de cultivos, policultivos, etc. (Añez y Espinoza, 2002).

Los policultivos limitan los problemas de plagas y enfermedades, tanto en el suelo como en la parte aérea de las plantas, aparte de mejorar el rendimiento (Gutiérrez, *et. al*; 2007).

Por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar el rendimiento de la zanahoria en un cultivo intercalar con milenrama, planta milenaria, que en la Agricultura Biodinámica se utiliza, por relacionarla con una eficiencia del uso del azufre y del potasio, y en consecuencia sobre la formación y el equilibrio de las proteínas y los hidratos de carbono, por esto la importancia de cultivarla junto a la zanahoria que requiere principalmente grandes cantidades de potasio y fósforo, para un buen rendimiento (Kehr y Bórquez, 2010).

PARTE EXPERIMENTAL

Las semillas de zanahoria se compraron en la casa comercial COBO S.A. y la milenrama se obtuvo a partir de macollos de plantas cultivadas en el vivero Chimalxochipan (FES Zaragoza, UNAM).

El cultivo intercalar se realizó bajo condiciones de invernadero, donde se preparó una parcela de 13.41m x 0.80 m, con acceso al agua por riego por goteo. Previo al trasplante de la milenrama y la siembra de la zanahoria, el suelo de la parcela fue biofertilizado con una mezcla de 50 kg de bocashi, 130g de cascarón de huevo, 130g de zeolita, 43g de roca fosfórica y 43g de ceniza, una vez homogenizado el sustrato, se tomó una muestra compuesta para la realización de un análisis macronutriental (N, P, K) con un equipo de LaMotte (modelo 5+H), con el fin de asegurar los requerimientos nutrimentales de los cultivos.

La parcela, se dividió en tres secciones de 4.5 m² cada una. En la sección 1 se cultivó solo la milenrama, en la parcela 2, solo la zanahoria y en la parcela 3 la milenrama intercalada con la zanahoria. Se trasplantaron macollos de milenrama, los cuales fueron podados casi en su totalidad del follaje para evitar la desecación y promover el rebrote lateral, el patrón de plantación fue a tres bolillo con 9 plantas/m², con una separación entre ellas de 25 cm. El trasplante de la milenrama se realizó un mes antes de sembrar la zanahoria, con el fin de mejorar las condiciones edáficas nutrimentales. A los 31 días después, se sembró la zanahoria, las semillas se remojaron 13 horas en agua a temperatura ambiente, con el fin de estimular la germinación. Durante el crecimiento y desarrollo de la zanahoria, se evaluó la altura del follaje, su cobertura como una medida del área foliar y la supervivencia. La cosecha de la zanahoria tanto en el policultivo como en el monocultivo se realizó a los 90 días después de su siembra, y en la parcela del cultivo intercalar se cosecharon 27 zanahorias y en la parcela del monocultivo 74.

Durante el experimento, en las tres secciones de la parcela, además de la medición de las variables de respuesta, se practicaron actividades culturales, tales como: a) el riego, que se aplicó de manera abundante, en las tres parcelas, permaneciendo abierto durante 24 horas, tres veces a la semana; b) biofertilización, para lo cual se aplicó purín de ortiga (dilución 1:10), y una dilución igual de microorganismos eficientes (*Trichoderma harzanium*, *Bacillus thuringiensis*, *Azospirillum* spp. y *Azotobacter* spp. entre otros), elaborados de manera artesanal en el Centro Chimalxochipan, y aplicados directamente al suelo y de manera foliar cada 15 días.

Respecto a las plagas, los tres tratamientos presentaron, hormigas, cochinillas y áfidos (pulgón verde), para el control de las hormigas se aplicó una cocción de hierbabuena, y arroz quebrado así como canela molida. Para el control de la cochinilla se colocaron vasos de plástico en el suelo con zumo, pulpa y cáscara de toronja la cual se renovaba cada 15 días. Los áfidos se controlaron con un biopreparado de cebolla, aplicado tres veces por semana.

Las variables de respuesta que se midieron durante esta investigación fueron: 1) variables morfológicas: altura, cobertura, peso fresco y seco del tallo y tamaño y peso de la raíz y 2) variables del rendimiento: rendimiento por área, índice de cosecha, tasa de crecimiento relativo, grados brix; índice del Uso equivalente de la tierra (UET) y contenido de potasio en el sustrato, antes y después de la plantación de la milenrama. Las variables de respuesta se analizaron en un ANOVA completamente al azar con dos tratamientos (policultivo y monocultivo) y 12 repeticiones. Las medias se compararon por la prueba de Tukey. Para esto se utilizó el programa NCSS versión 7.

RESULTADOS

El porcentaje de emergencia para las semillas de zanahoria, fue mayor en el monocultivo, con un 84.45 %, mientras que en el policultivo fue de 68.5 %, en ambos casos el tiempo medio de emergencia fue a los 7 días. La altura del follaje para la zanahoria, no presentó diferencias estadísticas significativas ($p \geq 0.05$), entre tratamientos, las plantas alcanzaron a los 91 días después de la siembra (momento de la cosecha) 40 cm (Fig. 1 y 2). En general, la altura del follaje, presentó la misma tendencia durante el desarrollo del cultivo, para ambos tratamientos.

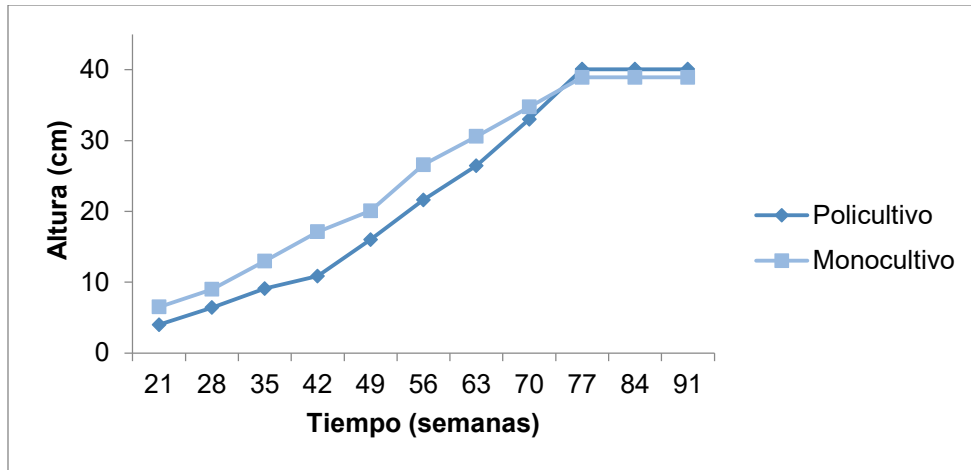


Fig.1. Altura del follaje durante el desarrollo de la zanahoria en sistema de policultivo y monocultivo.

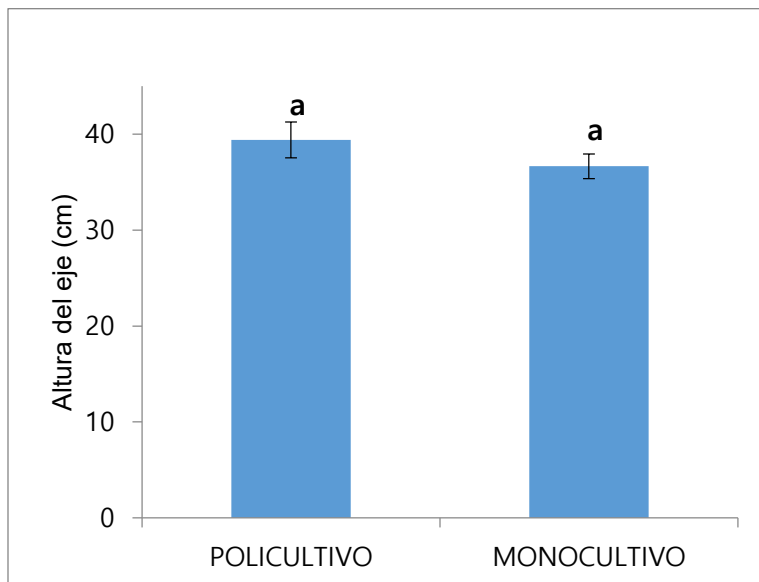


Fig.2. Altura de la zanahoria en ambos sistemas, donde se muestra que no existe diferencias estadísticas significativas (ANOVA F= 1.46, P=0.239).

La cobertura del follaje, entre los dos sistemas de cultivo, no presentaron diferencias estadísticas significativas ($p \geq 0.05$), alcanzando en ambos casos al momento de la cosecha, una cobertura de 40 cm^2 (Figs.3 y 4). La cobertura igual que la altura, presentó la misma tendencia en ambos tratamientos, durante el desarrollo del cultivo.

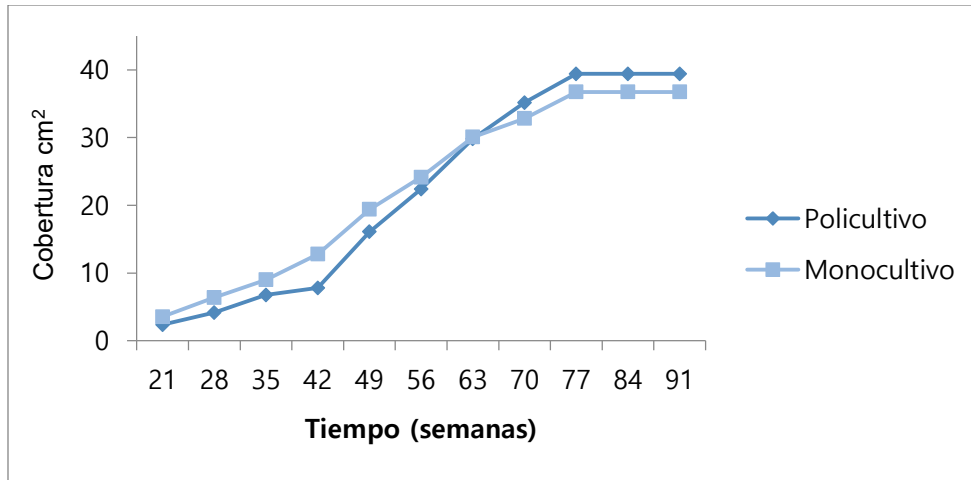


Fig. 3. Cobertura del tallo durante el desarrollo de la zanahoria en ambos sistemas.

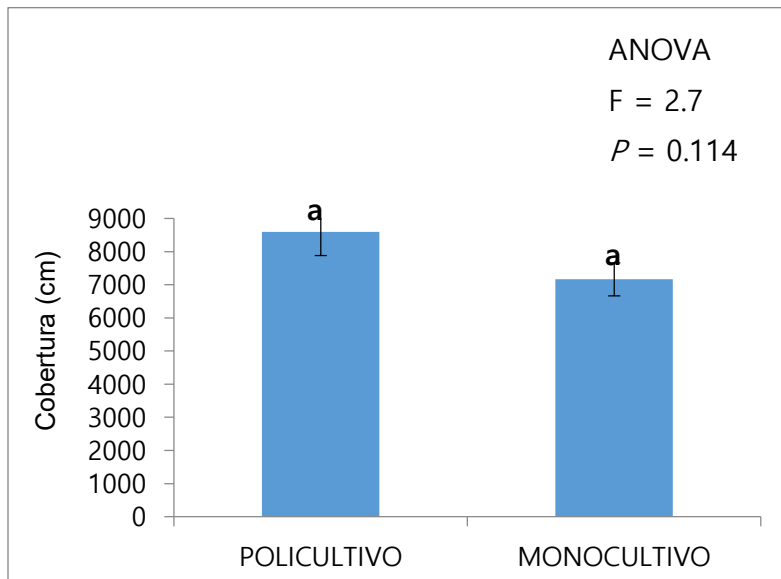


Fig. 4. Cobertura de la zanahoria en ambos sistemas, donde se muestra que no existe diferencias estadísticas significativas (ANOVA F= 2.7, P=0.114).

El tamaño y peso de las zanahorias, entre los dos sistemas de cultivo, no presentaron diferencias estadísticas significativas ($p \geq 0.05$), alcanzando un tamaño de 14.5 cm de largo en el policultivo y 14 cm en el monocultivo (Fig.5 y 6).

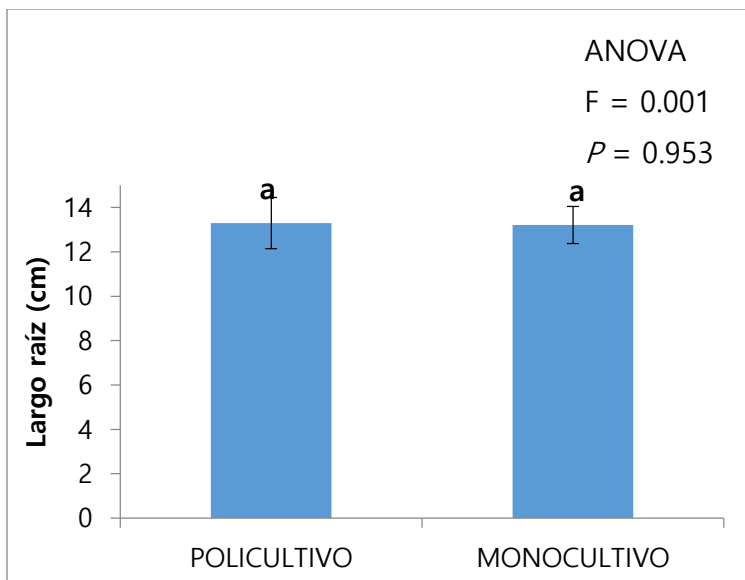


Fig. 5. Largo de la raíz de la zanahoria en ambos sistemas de tratamiento.

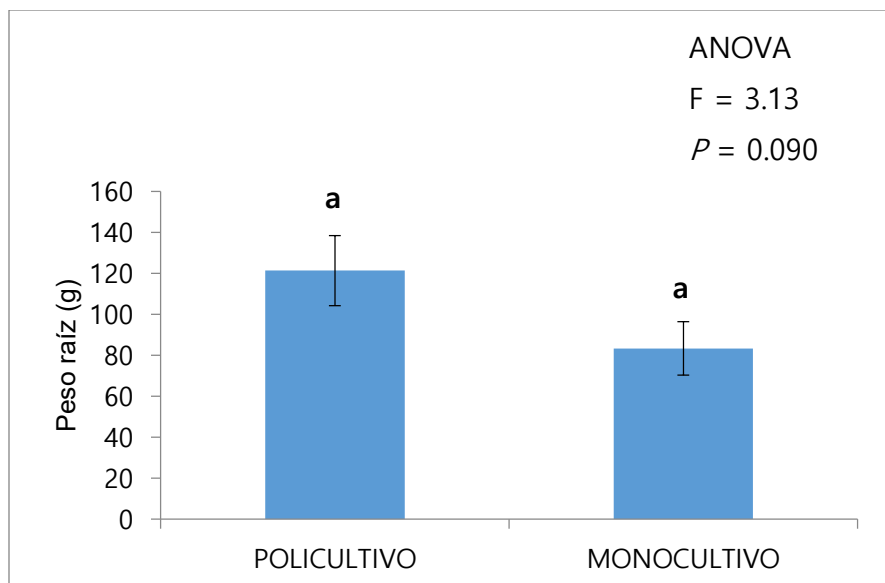


Fig.6. Peso de la zanahoria en el sistema intercalar y monocultivo.

En general, las variables del rendimiento de la zanahoria, no presentaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, resultando de 13.12 a 16.88 kg /m² y los valores de las otras variables también resultaron similares (Cuadro 1).

Cuadro 1. Atributos del rendimiento para las zanahorias intercaladas con milenrama

Tratamiento	Policultivo	Monocultivo
Rendimiento total (Kg/ m ²)	13.12	16.88
UET	0.82	0.82
Grados Bryx	10	11.5
Largo de la raíz (cm)	13.29	13.20
Peso de la raíz (g)	12.14	83.33

Los resultados de contenido de potasio en el sustrato, demostraron incrementos de este nutrimento antes y después de la plantación de milenrama (Cuadro 2). En el cultivo intercalar zanahoria-milenrama, se registró un incremento de 2890 a 3420 mg/kg y en el monocultivo a 2960 mg/kg, lo cual significa ganancias de 70 a 530 mg/kg (Cuadro 2). El incremento de potasio en el sustrato para el monocultivo de zanahoria, se explica, porque los tratamientos solo estuvieron separados en la parcela por bloques de cultivo, sin tener una separación física, por lo que se atribuye que con el riego, los beneficios de la milenrama se extendieron hacia el monocultivo (Céspedes, 2005).

Cuadro 2. Contenido del potasio (mg/kg) en el sustrato, durante diferentes etapas del desarrollo de los cultivos

	Monocultivo	Policultivo
Antes del cultivo de la milenrama y zanahoria	2890	2470
Durante el desarrollo de la zanahoria	3870	2550
Cosecha	2960	3420

La incidencia de plagas se presentó por igual para ambos tratamientos, la hormiga se presentó desde el inicio en los dos cultivos, con un 35% de infestación, su población se mantuvo presente hasta la cosecha; las cochinillas se presentaron aproximadamente a los 30 días después del trasplante de la milenrama, con un 18% de infestación para ambos tratamientos y el pulgón verde, apareció después de 30 días de la siembra de la zanahoria, con un 47% de infestación, en todos los casos, los métodos de control resultaron adecuados para regular las poblaciones de estos herbívoros, sin haberse visto afectado el rendimiento de los cultivos.

Otra plaga presente fueron los nematodos del género *Meloydogyne*, lo cual fue detectado por el desarrollo anormal de algunas zanahorias, donde estas presentaron forma de dedos. La infestación en el monocultivo fue de 41.89%, y en el policultivo de 33.33%.

CONCLUSIONES

- El cultivo intercalar zanahoria-milenrama, incrementó el contenido de potasio en el sustrato, registrándose un 25.44% más al momento de la cosecha de la zanahoria, después de 3 meses.
- La milenrama en policultivo generó una competencia con la zanahoria (no detectada estadísticamente debido al número de repeticiones), manifestada en una menor altura del follaje, cuando la densidad de plantación de la milenrama fue de dos milenramas por una zanahoria.
- La zanahoria cultivada bajo dos tratamientos (poli y monocultivo) indicó que sólo existen diferencias entre tratamientos para la variable de peso fresco del tallo.
- Los resultados, sugieren que se puede cultivar la zanahoria, con la milenrama, sin afectar su rendimiento. Lo cual representa una ganancia económica al poder obtener dos cultivos en lugar de uno.
- La milenrama intercalada con la zanahoria regula el áfido verde (*Myzus persicae*) por lo que es una planta trampa.
- La milenrama ayuda a mantener la fertilidad del suelo, ya que el potasio se incrementa en el sustrato.

BIBLIOGRAFÍA

1. Añez, B. y Espinoza, W.2002. Fertilización química y orgánica. Efectos interactivos o independientes sobre la producción de la zanahoria. Revista Forestal 46(2), 47-54.
2. Céspedes M. C. 2005. Agricultura Orgánica. Principios y Prácticas de Producción. Centro Regional de Investigación. Boletín INIA- N° 131. Quilamapu. Chilán, Chile
3. Gutiérrez- Martínez A., Aguilar -Jiménez C., Galdámez, J., Mendoza-Pérez S. y Martínez- Aguilar F. 2007. Impacto socioeconómico de los sistemas de policultivo maíz-Frijol-calabaza En La Frailesca

Chiapas, Seminario de Cooperación y Desarrollo en espacios rurales iberoamericanos sostenibles indicadores. México.

4. Kehr M. E. y Borquéz B. C. 2010. La zanahoria como una hortaliza apta para procesamiento agroindustrial. INIATierra adentro. Chile.
5. Morales P. J. Pablo. 1995. Cultivo de zanahoria. Fundación de Desarrollo Agropecuario. Boletín técnico N°. 23. República Dominicana.

DESOVES DE CUATRO VARIEDADES EN EL PEZ ÁNGEL (*Pterophyllum scalare* LICHTENSTEIN, 1823) BAJO CONDICIONES CONTROLADAS

Jesús Dámaso Bustamante González, Mariela González Rentería, Araceli Cortés García y Martha Rodríguez Gutiérrez

Laboratorio de Reproducción, Genética y Sanidad Acuícola, UAM-Xochimilco
Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, Delegación Coyoacán, C.P. 04960, Ciudad de México e-mail: acortes@correo.xoc.uam.mx

RESUMEN

En México, la producción de peces ornamentales es una alternativa rentable con perspectivas de crecimiento social y económico, en la cual se cultivan más de 160 especies con sus respectivas variedades en 23 entidades federativas del país (SAGARPA 2015). Dentro de las especies ornamentales 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 normales, dorsal delta, velo y velo bifurcado (Landines *et al.*, 2007). La presente investigación determina el desove de cuatro variedades del pez ángel *Pterophyllum scalare* bajo condiciones controladas. Se comparó entre las variedades (mármol, koi, humo, zebra), los desoves fueron mantenidos con temperatura de 27 °C, pH 7.5, oxígeno disuelto entre 3-5 mg L⁻¹, fotoperiodo de 12^L : 12^O, alimentadas con TetraColor® con 47.5 % de proteína. Los resultados indican una frecuencia del desove en promedio de 14.0 ± 1.5 días, no se detectaron diferencias significativas entre las variedades ($P < 0.05$). El promedio del número de ovocitos fue de 546.0 ± 91.0 con un porcentaje de eclosión del 85.4 %. Los resultados aportan información cuantitativa del comportamiento de la reproducción de las variedades del pez ángel para la optimización de su cultivo en sistemas de producción.

INTRODUCCION

Dentro de las especies ornamentales 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 de los peces más atractivos y apreciados por el público, lo cual incrementa su precio comercial (Ortega *et al.*, 2009; Kasiri *et al.*, 2011).

P. scalare es un cíclido tropical del Amazonas, que debido a su compleja reproducción en cautiverio fue difícil domesticar. Los criadores William Paullin y Franklin Barrett, lograron la reproducción en cautiverio en el año 1921 en Pensilvania, Estados Unidos de América y a partir de entonces se reproducen empíricamente en cautiverio, ya que aún se desconocen aspectos básicos sobre su biología (Bakalárska, 2011).

Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue determinar la frecuencia de desoves entre variedades *P. scalare* en cautiverio la información permitirá a los productores e investigadores optimizar su reproducción para la comercialización.

PARTE EXPERIMENTAL

Se colocó una pareja por cada variedad: mármol, koi, humo-chocolate, rayada de *P. scalare* con edad de un año. Los organismos fueron mantenidos en acuarios de 40 L, provistos de filtro biológico, temperatura 27 °C, pH 7.5, oxígeno disuelto entre 3-5 mg L⁻¹, fotoperiodo de 12^L : 12^O, alimentadas tres veces al día con alimento comercial TetraColor® con 47.5 % de proteína equivalente al 3% del total de la biomasa de cada acuario.

La evaluación del desove, se realizó con base a las frecuencias, en cada acuario fue introducido un tubo de PVC de 50 cm de largo cortado por la mitad, el cual sirvió de sustrato para los desoves. Cada desove contenido en el PVC fue depositado en acuarios de 15 L con temperatura 27 °C, pH 7.5 y aireación constante para contrarrestar

el desarrollo de patógenos. De cada desove, fue determinado el número de huevos por observación directa y se midieron siete huevos con un Vernier.

Análisis estadístico. Los resultados fueron procesados mediante análisis descriptivos expresados como medias±desviación estándar. Para determinar diferencias en la frecuencia y número de huevos entre las cuatro variedades de *P. scalare*, se empleó un análisis de varianza de una vía (ANOVA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cada pareja durante el periodo de estudio tuvo nueve desoves con un intervalo promedio de 14.6±0.8 días (intervalo de 14-16); y el número de huevos entre desove se muestra en la (Tabla 1); el análisis de varianza no detectó diferencias significativas (P>0.05) entre número de huevos por desove y entre variedades.

La variedad rayada fue quien presentó el mayor número de huevos 510.9±15.6 (intervalo de 482-531) y el menor se detectó en la variedad humo-chocolate 493.4±12.7 (intervalo de 473-513) (Tabla 1).

Tabla1. Número de huevos en las cuatro variedades de *P. scalare*.

De acuerdo con las características de los ovarios asincrónicos de ésta especie y los resultados obtenidos se

Variedad	Número de huevos por desove									Prom±DE
Mármol	489	544	506	484	491	521	533	508	497	508.1±20.7
Koi	486	497	524	488	506	493	508	497	502	500.1±11.7
Humo-chocolate	503	482	473	497	513	496	481	503	493	493.4±12.7
Rayada	521	514	503	513	482	531	514	526	494	510.9±15.6
Prom.±DE	499.8±16.0	509.3±16.6	501.5±16.1	495.5±16.9	498.0±16.4	510.3±18.7	509.0±16.5	508.5±16.2	496.5±14.0	503.1±16.4

considera que *P. scalare* puede obtener desoves durante todo el año, siempre y cuando se propicien condiciones de luz, temperatura y alimento, lo cual constituye una ventaja reproductiva comparada con otras familias, cuya reproducción es estacional (Landines et al., 2007).

El promedio de huevos 503.1±16.4 reportados en la presente investigación para las cuatro variedades solo supera el obtenido por Luna y Gómez (2005) 385.0±19.5 huevos al suministrar alimento especial para pez ángel y cercano al obtenido al alimentar con *Culex quinquefasciatus* 506.5±30.6 huevos.

Sin embargo, Rurangwa et al. (2004) y Schulz et al. (2010) reportan que independientemente de la abundancia y calidad del alimento existen otras variables que deben ser consideradas y que se relacionan con las variaciones en la frecuencia y número de ovocitos tal como es la edad, variabilidad genética de los reproductores, condiciones fisicoquímicas del agua y fotoperiodo.

Agudelo, (2005) *P. scalare* se encuentra sexualmente maduro entre los nueve y 12 meses de edad, lo cual difiere a lo observado, debido a que la madurez sexual se hizo notoria a partir de los seis meses de edad cuando iniciaron su reproducción. No obstante, este proceso podría variar dependiendo de la genética, condiciones fisicoquímicas de agua, régimen alimenticio, temperatura y fotoperiodo.

CONCLUSIONES

Es posible obtener la reproducción de *P. scalare*, bajo condiciones controladas al lograr desoves cada 15 días en promedio.

BIBLIOGRAFIA

1. Agudelo GDA. 2005. Establecimiento de un centro de reproducción de *Pterophyllum scalare* (pez ángel o escalar). *Revista Lasallista de investigación*. 2(2): 26-30.
2. Kasiri M, Farahi A y Sudagar M. 2011. Effects of Feeding Frequency on Growth Performance and Survival Rate of Angel Fish, *Pterophyllum scalare* (Perciformes: Cichlidae). *Veterinary Research Forum*. 2(2): 97-102.
3. 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.
4. Luna FJ y Gómez PE. 2005. Incorporación de *Culex quinquefasciatus* y *Daphnia* sp en la dieta y su influencia en la reproducción de *Pterophyllum scalare* (Pisces: Cichlidae). *Naturaleza y Desarrollo*. 3(1): 5-10.
5. Ortega SAA, Cortés G y Bustamante RH. 2009. Fecundity, growth, and survival of the angelfish *Pterophyllum scalare* (Perciformes: Cichlidae) under laboratory conditions. *Revista de Biología Tropical*. 57(3): 741-747.
6. Rurangwa E, Kime DE, Ollevier F y Nash JP. 2004. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in culture fish. *Aquaculture*. 234. 1-28.
7. SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2015. Aumenta la demanda de peces ornamentales: CONAPESCA. Consultado el 19 de noviembre de 2016: <http://www.sagarpa.gob.mx/saladeprensa//2012/Paginas/2015B162.aspx>
8. Schulz WR, Franca RL, Lareyre JJ, Legac F, García CH, Nobrega HR y Miura T. 2010. Spermatogenesis in fish. *General and Comparative Endocrinology*. 165: 390-411.

OBTENCIÓN DE BIOGÁS A PARTIR DE EXCREMENTO VACUNO, DE CONEJO Y NOPAL FORRAJERO (OPUNTIA SSP)

Maribel Santiago Teodoro, Estrada Reyes Arianna Cristel, Cyntia Gabriela Becerra Sánchez, Damaris Paola Maqueda Cobos.

Instituto Tecnológico de Atitalaquia, Av. Tecnológico No.9.Col Tezoquipa, C.P.42970, Atitalaquia, Hgo

RESUMEN

Existe un gran interés en el campo de la investigación por buscar nuevas alternativas para la sustitución de combustibles derivados del petróleo, una de estas opciones es el uso de estiércol de animales y otros desechos orgánicos para la producción de gas metano, el cual se puede aprovechar para uso doméstico o industrial, además de generar energía eléctrica, combustibles y obtener bio-fertilizantes. En este trabajo se presentan los resultados de la obtención de biogás a partir de mezclas con estiércol vacuno con nopal (Opuntia spp), estiércol de conejo con nopal y una mezcla de estiércol vacuno con la de conejo, teniendo en cuenta un control en parámetros indispensables para que se lleve a cabo la fermentación de estas mezclas como son temperatura (rango de 28 a 35 °C) y pH (6.8-7.5), esto con la ayuda de una casa térmica elaborada de lámina y recubierta con pintura negra para permitir una mayor absorción solar. La mezcla de nopal y estiércol vacuno fue colocado en un biorreactor de 4 litros el cual fue enchaquetado con unicel y colocado dentro de la casa térmica, durante 15 días. Se tomaron los datos de temperatura y se observó que el pH se mantuvo en los rangos de 7-7.5 en todo el tiempo del proceso. El biogás obtenido a partir de estos desechos orgánicos tuvo una disminución en la producción de H₂S y CO₂, unos de los mayores contaminantes en el medio ambiente, además se obtuvo un bioabono con gran cantidad de nutrientes para el plantío y crecimiento del mismo nopal (Opuntia spp).

INTRODUCCIÓN

El uso de combustibles fósiles en la actualidad representa un gran problema para la sociedad, tanto en el ámbito económico como en el ambiental, ya que debido a la gran demanda de este recurso, hoy en día se consume, encontrándolo en menos cantidad lo cual representa una mayor inversión para las empresas dedicadas a la extracción y procesamiento de estos combustibles, por lo que se ve reflejado en los costos a la comunidad. Ante dicho problema el uso de estiércoles de animales y residuos de nopal representan una interesante alternativa de solución todo esto con la ayuda de la digestión anaerobia.

Actualmente el nopal en México, constituye un gran potencial de desarrollo hacia una nueva alternativa para las energías renovables, como fuente energética y de llegar a generar energía eléctrica además de ser usado como fuente de alimentación para consumo humano en el centro del país, y como forraje para animales.

Este trabajo tiene la finalidad de realizar un estudio técnico y práctico sobre cómo aprovechar los residuos y productos orgánicos procedentes de la comunidad de Tezoquipa, municipio de Atitalaquia Hidalgo como lo son el estiércol vacuno, estiércol de conejo y nopal forrajero (Opuntia spp) para la producción de biogás y obtener una alternativa más limpia en los combustibles utilizados en el hogar, además de estudiar el control de los parámetros de un biodigestor para una mayor eficacia en el proceso de biodigestión.

TEORÍA

Un biodigestor es un contenedor cerrado de desechos orgánicos el cual permanece hermético que fermenta la materia convirtiéndola finalmente en biogás y dejando efluentes utilizados como fertilizantes agrícolas.

La materia prima que se puede utilizar es:

- ❖ Residuos de origen animal
- ❖ Residuos de origen humano
- ❖ Residuos de origen vegetal etc.

El biogás que generalmente se produce en un biodigestor, es un gas incoloro, inflamable, y contiene 70% de metano y 30% de dióxido de carbono, con aportes menores de Nitrógeno,

Tabla 1. Composición química del biogás		
Componente	Fórmula	Porcentaje %
Metano	CH ₄	40-70
Dióxido de carbono	CO ₂	30-60
Hidrogeno	H ₂	0,1
Nitrógeno	N ₂	0,5
Monóxido de carbono	CO	0,1
Oxigeno	O ₂	0,1
Sulfuro de hidrógeno	H ₂ S	0,1

Fuente: Blanco et al. (2011)

Hidrógeno, y ácido sulfhídrico. A demás se obtiene un fertilizante orgánico que es rico en nutrientes.

Excremento Vacuno: Este estiércol es el más importante y el que se produce en mayor cantidad en las explotaciones rurales. El estiércol contiene Nitrógeno, fósforo y potasio. Una cabeza de ganado produce 26.4 kg de estiércol húmedo del que se puede extraer 1.04 m³ de biogás al día.

Excremento de Conejo: Es un estiércol ácido, muy fuerte y rico en nutrientes, similar al estiércol de gallina. Se debe fermentar bien antes de incorporarlo al suelo. Su equilibrada estabilización (relación C/N) le permite una rápida transformación de este estiércol en humus.

Nopal: El nopal presenta características moleculares que permiten entregar una gran cantidad de biogás en corto tiempo, el nopal se degrada 5-10 veces más rápido que el estiércol animal, lo que permite que el equipo de biodigestión sea 5-10 veces más productivo.

En la literatura, la mayoría de los autores, coinciden en que el proceso de obtención de CH₄ se lleva a cabo en cuatro etapas:

- **Etapa Hidrólisis:** En esta etapa, las moléculas complejas (celulosa, proteína, lípidos) son hidrolizadas en compuestos solubles (azúcares, aminoácidos y grasas) por la acción de enzimas extracelulares de las bacterias.

Reacciones que se involucran en la etapa de la hidrolisis.

Celulosa + H₂O → Azúcares solubles

Proteínas + H₂O → Aminoácidos solubles

- **2. Etapa acidogénica:** Esta fase se conoce también como fermentativa. Es decir, es un periodo de producción intensiva de ácidos, que se inicia con los alimentos y compuestos de más fácil descomposición, como las grasas, donde hay una alta producción de dióxido de carbono (CO₂), ácido sulfhídrico (H₂S), ácidos orgánicos y bicarbonatos; su pH se encuentra en la zona ácida, con valores entre 5.1 y 6.8.
- **3. Etapa Acetogénesis:** En esta etapa las bacterias acetogénicas oxidan el ácido propiónico y el butírico hasta acético e hidrógeno, que son los verdaderos substratos metanogénicos. Se producen ataques a los ácidos orgánicos y compuestos nitrosos, en pequeñas cantidades hay producción de dióxido de carbono (CO₂), nitrógeno e hidrógeno, bicarbonatos y de compuestos amoniacales.

Se caracteriza por presentar mal olor debido a la presencia de ácido sulfhídrico (H₂S), flotación de gran parte de sus sólidos, y un pH aún en la zona ácida con valores entre 6.6 y 6.8

- **4. Etapa de metanogénesis:** Las bacterias esta etapa, realizan la síntesis del metano, especialmente a partir de hidrógeno y dióxido de carbono.

Existen diferentes parámetros que intervienen en el proceso anaerobio por la producción de metano a partir de la biodigestión, las cuales son:

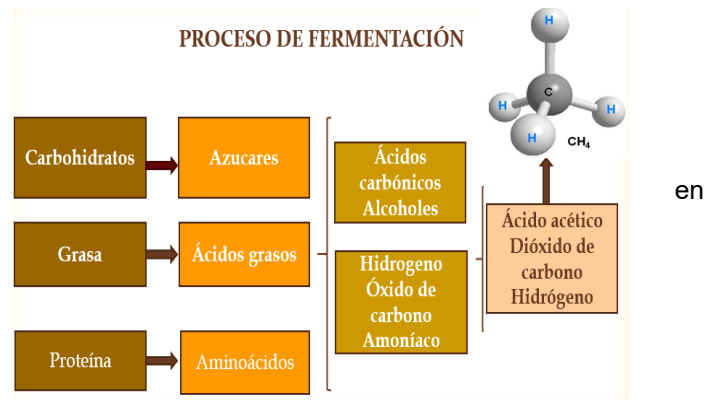


Imagen 1. Proceso de fermentación

- **Temperatura:** El rango de temperatura y el periodo de retención dentro del biodigestor, clasifican la fermentación de la siguiente manera:
 - ❖ Fermentación psicofílica: Se encuentra entre un rango de temperatura de 10°C a 20°C por más de 100 días de retención.
 - ❖ Fermentación mesofílica: Se encuentra en un rango de temperatura entre 20°C a 35°C, aproximadamente de 30 a 40 días de retención.

- ❖ Fermentación Termofílica: Se establece en un rango de temperatura entre 50°C a 60°C durante más de 8 días de retención. Este tipo de fermentación no es apropiada para plantas sencillas
- **Relación C/N:** Los materiales de fermentación están compuestos en su mayor parte por carbono (C) y también contienen nitrógeno (N), entonces se establece la relación entre ellos (C/N), la cual influye sobre la producción de gas. Una relación de 20:1 hasta 30:1 es aceptable, aunque el valor ideal es de 16.

Sobre la base de contenido de carbono y nitrógeno de cada una de las materias primas puede calcularse la relación C/N de la mezcla aplicando la fórmula siguiente:

$$K = \frac{C1*Q1+C2*Q2+\dots+Cn*Qn}{N1*Q1+N2*Q2+\dots+Nn*Qn}$$

K= C/N de la mezcla de materias primas
 C=% de carbono contenido en la materia prima
 N=% de nitrógeno contenido en la materia prima
 Q=peso fresco de cada materia

Tabla 2. Valores promedios de la relación carbono/nitrógeno de algunos residuos.

Materia Prima	C (%)	N(%)	P ₂ O ₅ (%)	K ₂ O (%)	CaO(%)	MgO (%)
Excretas:						
Bovino	17,4 – 40,6	0,3 – 2,0	0,1 – 1,5	0,10	0,35	0,13
Porcino	17,4 - 46,0	1,1 – 2,5	0,4 – 4,6	0,30	0,09	0,10
Caprino	35,0 – 50,0	1,0 – 2,0	0,2 – 1,5	2,30		
Equino	35,0 - 52,0	0,3 – 0,8	0,4 – 1,6	0,35	0,15	0,12
Ovino	35,0 – 46,0	0,3 – 0,6	0,3 – 1,0	0,15	0,33	
Conejos	23,0 – 35,0	1,0 – 1,9	0,9 – 1,8	2,10	0,45	0,15
Aves	28,0 – 35,0	1,4 – 2,0	2,0 – 2,8	1,40	0,80	0,48
Patos	29,0 - 41,0	0,6 – 0,8	1,0 – 1,5	0,40	0,80	
Pavos	17,4 – 41,0	0,6 – 0,8	0,5 - 0,8	1,10	0,80	
Humanas	2,5	0,8 – 1,0	0,5	0,30		

Fuente: Varnero y Arellano, 1991.

- **pH:** Este parámetro determina la inhibición o toxicidad de las bacterias metanogénicas. Para que el proceso se desarrolle satisfactoriamente, el pH no debe bajar de 6.0 ni subir de 8.0. Los valores de pH bajos reducen la actividad de los microorganismos metanogénicos, provocando la acumulación de ácido acético y H₂.

El diseño de un biodigestor dependerá de la cantidad y del tipo de residuos disponibles en el medio rural, de las condiciones de clima, necesidades de biogás que se requiere, ubicación, materiales y técnicas de construcción de que se disponga.

Cuando se utilizan biodigestores rurales pequeños se recomiendan las siguientes mezclas:

Tipo animal	Estiércol: agua
Bovino	1:1
Porcino	1:3
Aves	1:3

Bioabono: EL bioabono es un fertilizante orgánico - mineral que contiene sales solubles con elementos nutrientes (N,P,K,Ca, Mg S + menores), también puede tener microorganismos como hongos, bacterias fijadoras de nitrógeno y agentes bioquímicos fisiológicamente activos como enzimas, ácidos húmicos y aminoácidos entre otros, que pueden acelerar la toma de los nutrientes por las plantas y absorberlos para ser metabolizados.

PARTE EXPERIMENTAL

El presente proyecto se realizó en la comunidad de Tezoquipa Hgo municipio de Atitalaquia, ya que cuenta con los recursos necesarios para la producción del biogás, como lo es el excremento vacuno, el excremento de conejo y el nopal forrajero (opuntia ssp).

1. Se realizó un estudio estadístico en la localidad de Tezoquipa Hgo. Para conocer el número de personas que se dedican a la crianza de animales vacunos y de conejo.
2. Se diseñaron biodigestores a nivel laboratorio con un volumen de 4 litros como se muestra en la figura 2. Para su diseño se realizó un enchaquetado con unicel el cual permite mantener la temperatura, se implementaron termómetros, tubería pvc y bolsas



Imagen 2. Biodigestores (4litros)

las cuales almacenaron el biogás.



Imagen 3.Excremento Vacuno



Imagen 5. Nopal forrajero (opuntia ssp).

3. Posteriormente se realizó la recolección de la materia prima como es excremento vacuno, excremento de conejo y el nopal forrajero (opuntia ssp).



Imagen 3. Excremento Vacuno



Imagen 4. Excremento de Conejo

4. Se colocó en el primer biodigestor excremento vacuno más agua realizando una relación 1:1 basándose en la bibliografía obtenida, este se selló y se puso en proceso de fermentación durante 15 días.

5. Se realizó un segundo biodigestor con excremento de conejo más agua y un tercero con nopal.

El nopal se compone por un gran porcentaje de agua, por lo tanto, en este biodigestor ya no se le agregó agua.

6. Se realizó un cuarto biodigestor con la mezcla de nopal licuado junto con el estiércol vacuno hasta obtener una mezcla homogénea.

7. Se realizó un quinto biodigestor con mezcla de nopal y excremento de conejo de igual manera el biodigestor se selló y se enchaquetó con unicel.

8. Para cada biodigestor se tomaron diariamente datos de temperatura, pH inicial y final de cada mezcla.



Imagen 6. Muestras de pH Nopal y estiércol de conejo

Imagen 7. Nopal y Estiércol de vaca en el biodigestor

RESULTADOS

Se realizó una encuesta a 100 personas en la localidad de Tezoquipa Hgo. De las cuáles 26 personas se dedican a la crianza de animales, y la mayoría en la producción de ganado vacuno tal como se muestra en la gráfica 1. Por lo que la zona es idónea para la generación de biogás a partir de estiércol de animales, principalmente vacuno.

Grafica 1. Animales de crianza

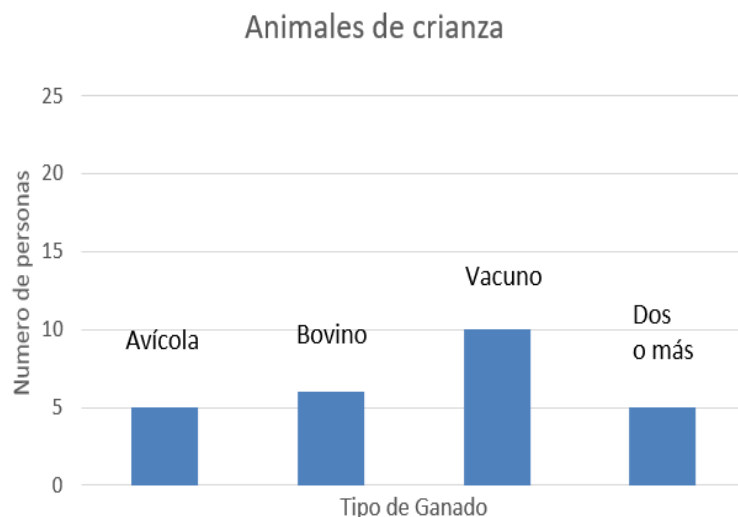


Tabla 3. Temperaturas obtenidas durante los 15 días de retención

Las temperaturas de las pruebas experimentales se mantuvieron en el rango establecido, sin tomar en cuenta el primer valor, que fue el inicio de la prueba, es decir cuando se hizo la mezcla y llenado del biodigestor.

Fecha	Excremento Vacuno	Excremento Conejo	Excremento Vacuno y nopal	Excremento Conejo y nopal
03/03/2017	22	24	22	24
04/03/2017	26	26	26	26
05/03/2017	30	30	30	28
06/03/2017	30	30	30	26
07/03/2017	32	28	32	32
08/03/2017	25	22	25	25
09/03/2017	28	26	28	28
10/03/2017	30	28	30	26
11/03/2017	26	25	26	26
12/03/2017	26	25	26	26
13/03/2017	22	22	24	22
14/03/2017	26	25	25	26
15/03/2017	30	30	30	30
16/03/2017	30	30	30	28
17/03/2017	28	28	28	28
18/03/2017	28	27	28	28

Tabla 4. Valores de pH en las pruebas realizadas

	Excremento Vacuno	Excremento conejo	Nopal	Excremento vacuno-nopal	Excremento conejo-nopal
Inicio	7-7.5	6	6-7	7-7.5	7-8
Final	7-7.5	7	7-7.5	7-7.5	7-7.5

En la tabla anterior se muestra, que el pH se mantuvo dentro de los rangos para generar el biogás, no sobrepasando el valor de 7.5.

Como resultado de la experimentación, se obtuvo una mayor producción de gas metano en el biodigestor que contenía el estiércol vacuno en un porcentaje de 45%. El segundo con mayor producción fue el de la mezcla de excremento vacuno y nopal con un 38%. En el biodigestor que contenía el excremento de conejo no se logró obtener el biogás en este periodo, y el de la mezcla de nopal con excremento de conejo generó una pequeña cantidad, la cual resultó ser insignificante con respecto a las otras pruebas, tal como se muestra en las siguientes imágenes.



Imagen 8. Biogás obtenido excremento Vacuno



Imagen 9. Biogás obtenido excremento de conejo y excremento de conejo-nopal



Imagen 10. Biogás obtenido excremento de vaca-nopal

CONCLUSIONES

Mediante el uso de diferentes tipos de excrementos, se logró obtener la producción del biogás, obteniendo en mayor proporción el del excremento vacuno y el de la mezcla vacuno-nopal con un porcentaje de 45 y 38% respectivamente. La casa térmica fue de gran apoyo para la estabilización de la temperatura, sin embargo, falta mejorar su diseño, así como del biodigestor para un mejor control en los parámetros.

Mediante este estudio, se pudo comprobar que es factible obtener biogás a partir de excremento de animales y así darle un uso aprovechable a estos residuos que ocasionan un mal aspecto a la comunidad y disminuir las enfermedades estomacales y respiratorias generadas por el mal uso de los mismos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Baquedano M, "Los digestores: Energía y fertilizantes para el desarrollo rural", Xalapa, Veracruz, Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos (INIREB). 1979 pp 30.
2. Cepero, Valentina Savran, D. Blanco, M. R. Díaz Piñón, J. Suárez y A. Palacios "Production of biogas and biofertilizers from biodigester effluents Pastos y Forrajes" Scielo 35, 2012. pp 219-226.
3. R, Cervantes "Diseño de un bio-digestor para la producción de biogás en una vivienda" Tesis profesional, DIMA, Universidad Autónoma Chapingo. 2002.
4. María Teresa Varnero Moreno "MANUAL DE BIOGÁS". 2016, de FAO Sitio web: (<http://www.fao.org/docrep/019/as400s/as400s.pdf>)
5. A, Alcayaga, J Glaría , I Guerrero, "Regulaciones de temperatura y potencial de hidrógeno en un biodigestor anaerobio de lecho de lodo granular expandida", Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaiso, Marzo. pp11
6. V, A, Guevara, "Fundamentos básicos para el diseño de biodigestores anaeróbicos rurales. Producción de gas y saneamiento de efluentes". Documento OPS/CEPIS/96. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente – Organización Panamericana de la Salud. Lima, 1996, pp 80.

CARACTERIZACIÓN ECOLÓGICA DE *Laelia autumnalis* (ORCHIDACEAE) EN FUERTE DE LOS REMEDIOS, SIERRA DE PÉNJAMO, GUANAJUATO, MÉXICO.

Ibarra-Aguado Blanca Araceli, Ávila-Díaz Irene, Hernández-Hernández Victoria, Colli-Mull Juan Gualberto.

Departamento Licenciatura en Biología. Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Carretera Irapuato-Silao, Km 12.5. C.P. 36821. Irapuato, Guanajuato.

Facultad de Biología Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Gral. Francisco J. Múgica S/N, Ciudad Universitaria, 58030 Morelia, Michoacán.

RESUMEN

La familia Orchidaceae es una de las más diversas, con más de 25,000 especies, es uno de los grupos de plantas poco estudiados en Guanajuato, considerándose necesario llevar a cabo trabajos de ecología. El objetivo del estudio fue llevar a cabo una caracterización ecológica de *Laelia autumnalis* (Lex.) Lindl., para conocer el hábitat donde se desarrolla la especie en el Área Natural Protegida Sierra de Pénjamo. El muestreo fue por medio de cuatro cuadrantes de 100 x 40 metros, los parámetros tomados fueron: número de stands, número de pseudobulbos, tipo de sustrato, asociaciones y orientación con el fin de describir los factores que pueden influir en el establecimiento de esta especie. Los resultados obtenidos revelan que los individuos presentan diferencias significativas en su forma de vida donde la mayoría de individuos de la población se comportan como una rupícolas. También se registró que los individuos encontrados tienen mayor asociación con líquenes y musgos y una orientación al este.

INTRODUCCIÓN

Las orquídeas forman probablemente la familia de plantas más extensa, con más de 25,000 especies descritas en la actualidad a nivel mundial (Dressler, 2005), distribuidas en todos los continentes, con excepción de la Antártida. México es un país de enorme riqueza natural, estando entre los primeros siete países por su variedad de seres vivos. Las orquídeas ocupan el tercer lugar a nivel nacional y solo Asteraceae y Fabaceae tienen un mayor número de especies (Villaseñor, 2016; Hágsater et al., 2005).

La Familia Orchidaceae en nuestro país cuenta con 162 géneros y 1213 especies de las cuales alrededor de 500 especies son endémicas, considerándose también como un grupo de plantas muy amenazado (Villaseñor, 2016; Rzedowski, 2006, Hágsater et al., 2005).

TEORÍA

Para la Familia Orchidaceae, en el estado de Guanajuato se registran 19 géneros y 34 especies (Zamudio y Galván, 2011) y en la Sierra de Pénjamo se tienen 6 géneros y 11 especies (Guadán, 2012), sin embargo, son pocos los estudios acerca de la ecología de orquídeas en el estado, considerándose que es necesario llevar a cabo más estudios al respecto, por lo cual este estudio es una contribución al conocimiento de su ecología.

Ecología de orquídeas rupícolas.

Del total de las especies de orquídeas muy pocas son litófitas o conocidas también como rupícolas las cuales son un tipo de plantas que crecen en o sobre rocas (Halbinger y Soto, 1997). Las cuales utilizan las rocas recubiertas de musgo o restos de hojas en descomposición para desarrollarse. Se alimentan de los nutrientes disueltos en el agua de lluvia, partículas que acarrea el aire y de los desechos acumulados cerca de las rocas o entre las hendiduras o huecos de la corteza y de las rocas por lo que el anclaje al sustrato es siempre muy débil e incluso pueden alimentarse de sus propios tejidos muertos, las raíces están expuestas a la intemperie al igual que en las epifitas, las cuales no son parásitas, ya que no se alimentan del árbol donde viven, sino que lo usan como medio de soporte y como vehículo para alcanzar la luz del sol (Granados-Sánchez et al., 2003).

El género *Laelia* se caracteriza por ser plantas epífitas o en ocasiones litófitas con raíces basales, filiformes y carnosas, presenta pseudobulbos agregados o separados de 4.5 a 10 cm de largo, flores grandes y vistosas, los sépalos son extendidos; los sépalos y pétalos presentan márgenes no ondulados cuya característica permite identificar con mayor facilidad a una especie dentro de este género (García-Cruz, et al., 2003; Halbinger y Soto, 1997). El género que se distribuye de México hasta Panamá y de repartición amplia en el territorio nacional, este género es sumamente apreciado gracias a la belleza que presentan sus flores, siendo uno de los géneros más

colectados tanto por aficionados como cultivadores a través de los años. Muchas de las poblaciones silvestres han sido diezmadas, incluso algunas locales se han extinguido, lo que ha traído como consecuencia que la mayoría de las especies estén en peligro de desaparecer ya que año con año son utilizadas (Halbinger y Soto, 1997; García-Cruz, et al., 2003; Ávila-Díaz y Oyama, 2007).

Características de la especie *L. autumnalis*.

La especie *L. autumnalis* se distingue por ser una planta herbácea epífita o litófita es decir, que crece sobre árboles (normalmente encinos) y piedras. Con raíces basales, filiformes, carnosas, con pseudobulbos agregados o separados y alargados, flores grandes y vistosas de 7-10 cm de diámetro con fuerte fragancia en días con sol, sépalos extendidos ligeramente más anchos que los pétalos, labelo trilobado, capsula elipsoide a ovoide. Esta orquídea tiene flores de color rosa-púrpura o lila a magenta oscuro, inflorescencias que van de 70 a 115 centímetros de alto, con racimos de 5 a 12 flores con duración de 10-15 días en la planta (Halbinger, 1993; Halbinger y Soto, 1997). Es una especie endémica de México se encuentra en bosques de encino o de pino-encino, en Guanajuato, Nayarit, Jalisco, Colima, Michoacán, México, Distrito Federal, Morelos, Puebla y Guerrero florece de octubre a noviembre ocasionalmente hasta Diciembre (Beltrán-Rodríguez et al., 2012). Es una especie vistosa y apreciada por los cultivadores de orquídeas y diversas comunidades indígenas mexicanas por el alto valor que se le atribuye a sus flores pues durante siglos se han utilizado como ofrenda en las ceremonias del Día de Muertos (García-Cruz, et al., 2003).

PARTE EXPERIMENTAL

El área de estudio se encuentra entre los límites del municipio de Pénjamo y Cuerámara en la región mexicana del Bajío al sur -oeste del estado de Guanajuato. La Sierra ocupa el 2.74% de la superficie estatal y abarca los municipios de Pénjamo, Manuel Doblado y Cuerámara (Anónimo 2000).

El clima en la Sierra de Pénjamo es templado, tropical lluvioso con veranos calientes, con temperatura mínima de 6.2°C, la temperatura media mensual de 7-14°C y temperatura máxima de 31.7°C (Anónimo 2000).

Dentro de la vegetación podemos encontrar bosque tropical caducifolio, matorral xerófilo, pastizal, bosque de *Quercus*, vegetación acuática y subacuática y bosque de galería (Rzedowski y Calderón de Rzedowski, 1987).

Al este de la Sierra de Pénjamo se encuentra el área conocida como El Fuerte de los Remedios, donde existen bosques que se localizan en cañadas con humedad a lo largo del año, permitiendo el desarrollo de algunos árboles que alcanzan hasta 20m de altura (Guadián, 2012, Figura 1).

PARTE EXPERIMENTAL

Se realizaron salidas de campo en el periodo 2015 a 2017 el muestreo fue por cuadrantes de 100 X 40 m (Mostacedo, 2000) con orientación NE, y se establecieron cuatro cuadrantes en Bosque de Galería. Para llevar a cabo la caracterización ecológica se tomaron diferentes datos como son: número de stand o agrupaciones de pseudobulbos distribuidos en lo largo o ancho de las rocas y en tallos de los árboles, número de flores, asociación con otras plantas liquen, musgo, helecho, bromelia, cactácea, gramínea, tipo de sustrato donde crece roca, árbol y orientación de las especies norte, sur, este y oeste (Ávila-Díaz, coms, pers.). Se hicieron análisis estadísticos para saber las diferencias significativas entre los distintos factores, así como gráficas de porcentajes respecto a ciertos factores descritos.



Figura 1. Mapa de la Sierra de Pénjamo (tomado de Guadián, 2012).

RESULTADOS

Laelia autumnalis es una especie epífita y ocasionalmente litófila (Figura 2).

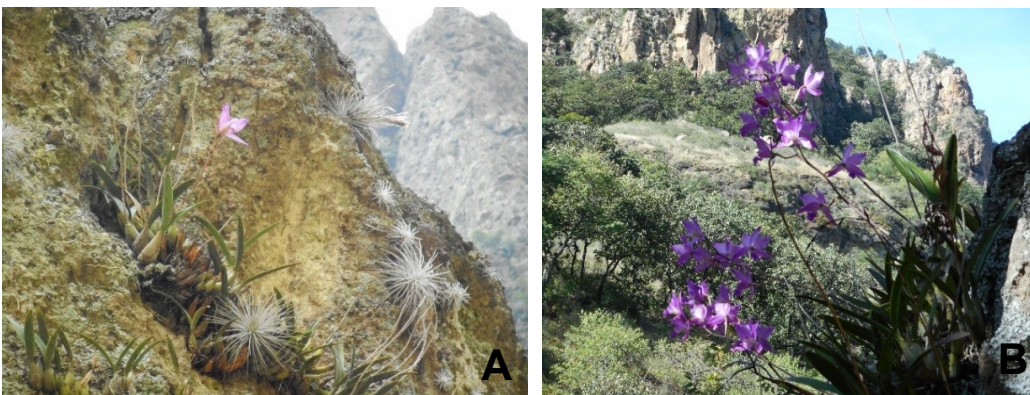


Figura 2. A y B. Grupo de pseudobulbos de *Laelia autumnalis* creciendo sobre rocas.

Se contabilizaron un total de 4936 pseudobulbos distribuidos en 49 stands en los cuatro cuadrantes. En el cuadrante uno, se registraron 895 individuos en 28 stands equivalentes al 18.132%, en el cuadrante dos 2465 individuos en 12 stands equivalentes al 49.939%, en el cuadrante tres 1166 individuos en cuatro stands equivalentes al 23.622% y en el cuadrante cuatro 410 individuos en cinco stands equivalentes al 8.306% (Figura 3).

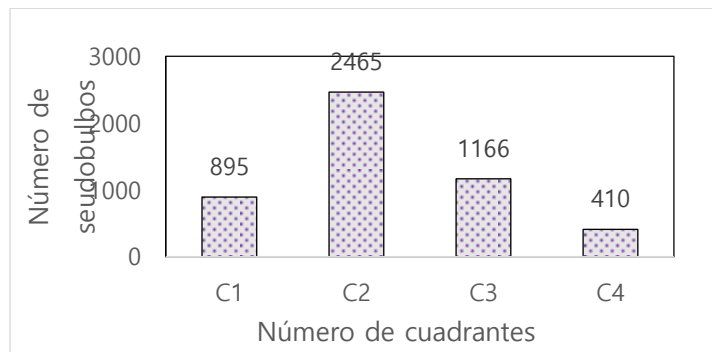


Figura 3: Número total de pseudobulbos por cuadrantes.

Se muestra los distintos sustratos en los que se encontraron las poblaciones, demostrando así que el sustrato preferido son rocas con un 92% de los stands y por otro lado un 8% de los stands como epífitas (Figura 4).

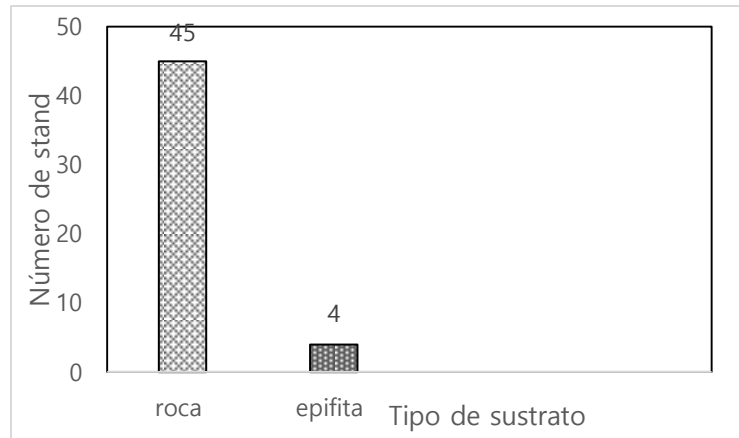


Figura 4: Tipo de sustrato en el que se encuentran los stands de pseudobulbos.

Se muestran diferencias significativas ($X^2 = 8.579$, $gl= 3$ y $p=0.035$) en relación con las diferentes plantas a las que se asocia *L. autumnalis*, donde para musgo se registra un 59.2% del total de las plantas asociadas ($X^2 = 10.638$, $gl= 3$ y $p=0.014$), para Liquen un 77.6% los cuales demuestran que *Laelia autumnalis* en Fuerte de los Remedios, Sierra de Pénjamo, Guanajuato se asocia mayormente con estos (Figura 5).

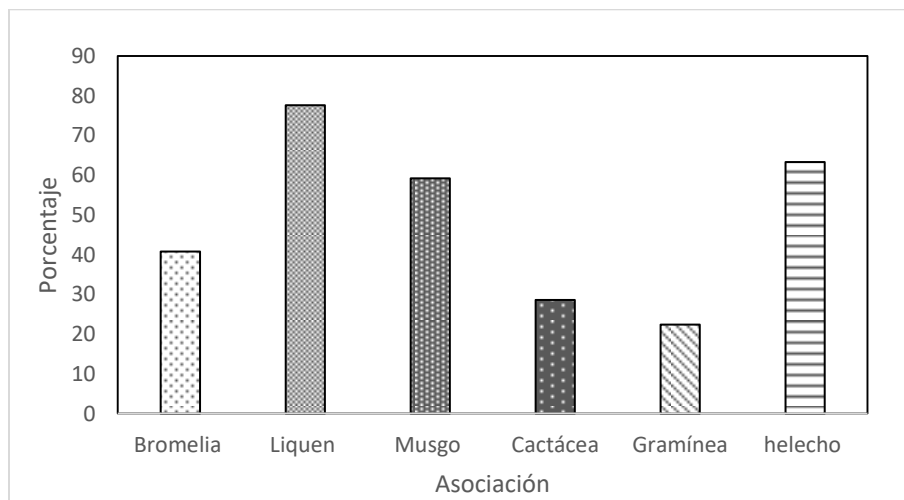


Figura 5: Preferencia de asociaciones de las agrupaciones de pseudobulbos.

Los pseudobulbos tienen un crecimiento en orientación al este tomando en cuenta la rosa de los vientos con cuatro puntos norte, sur, seste y oeste (Figura 6).

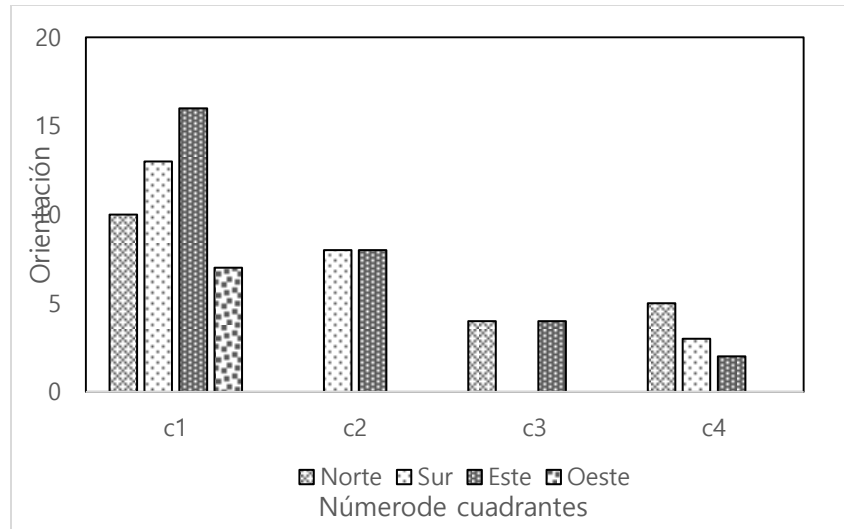


Fig. 6: Orientación de los seudobulbos dentro de los cuatro cuadrantes.

CONCLUSIONES

1. *Laelia autumnalis* en Fuerte de los Remedios, Sierra de Pénjamo, Guanajuato se comporta como una población litófila o rupícola preferentemente.
2. *Laelia autumnalis* en el área de estudio se asocia con Líquenes en un 77.6% y con musgos en un 59.2%.
3. *L. autumnalis* en el área de estudio en Bosque de Galería esta mayormente creciendo en orientación al este.

BIBLIOGRAFÍA

1. Anónimo, "Diagnóstico biofísico regional de la Sierra de Pénjamo, secretaria de desarrollo agropecuaria, Guanajuato, México". 2000. Sin paginación.
2. I. Ávila-Díaz, K. Oyama, "Conservation genetics of an endemic and endangered epiphytic *Laelia speciosa* (Orchidaceae)", American Journal of Botany, Vol. 94, 2, 2007 pp.184-193.
3. L.A. Beltrán-Rodríguez; B. Martínez-Rivera; A. P. Maya, "Etnoecología de la flor de catarina. *Laelia autumnalis* (La Llave et Lex. Lindl.) (Orchidaceae) en una comunidad campesina al sur del estado de Morelos, México: Conservando un recurso y Preservando saberes populares", Etnobiología Vol. 10, 1, 2012, pp. 1–17.
4. R. L. Dressler, "How many orchid species?", Selbyana Vol. 26, 2005, pp. 155–158.
5. J.L. García-Cruz, R. Sánchez, M. Jiménez, "Orchidaceae. Flora del bajo y regiones adyacentes" fascículo 119, 2003, pp. 76–83.
6. D. Granados-Sánchez; G. F. López-Ríos; M. Á. Hernández-García; Sánchez-González, A., "Ecología de las plantas epífitas", Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente, Vol. 9, 2, 2003, pp. 101-111.
7. J.I. Guadián, "Flora y vegetación de la Sierra de Pénjamo, Guanajuato (México)2, Tesis de licenciatura, Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Mich. 2012.147 pp.
8. E. Hagsater, A. Soto Arenas, G. Salazar, R. Jiménez Machorro, M.A. López Rosas y R. L. Dressler, "Orchids of Mexico". Instituto Chinoín, México. 2005. 304 pp.
9. F. Halbinger, M. A. Soto, "*Laelias* of México", Orquídea, Vol.15, 1997, pp. 1-160.
10. F. Halbinger, "*Laelias* de México", Asociación Mexicana de Orquideología, A. C. 1993. México.
11. B. Mostacedo, T. S. Fredericksen, "Manual de Métodos Básicos de Muestreo y Análisis en Ecología Vegetal", 2000, Santa Cruz, Bolivia.
12. J. Rzedowski, "Vegetación de México", Comisión Nacional para el Conocimiento de la Biodiversidad. México.1ra Edición digital,2006,504 pp.
13. J. Rzedowski, G. Calderón de Rzedowski, "El bosque tropical caducifolio de la región mexicana del bajo", TRACE, Vol. 12, 1987, pp. 12-21.

14. J. L. Villaseñor, "Catálogo de planas vasculares nativas de México", *Revista Mexicana de Biodiversidad*. Vol. 87, 2016, pp. 559-902.
15. Zamudio y R. Galván, "La diversidad vegetal de los estados de Guanajuato, México", in: J.Rzedowski & Calderón de Rzedowski (eds.) *flora del bajío y regiones adyacentes. fascículo complementario XXVII*, 2011, pp. 1:101.

SÍNTESIS DE MATERIALES LUMINISCENTES A PARTIR DE METALOLIGANDOS DE LA FAMILIA SALEN

Paulina Garnica Chávez, Carlos Felipe Hernández Fuentes, María del Rosario Ruíz Guerrero

Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación e Innovación Tecnológica, Cerrada de Cecati S/N. Col. Santa Catarina Azcapotzalco México D. F. CP:02250 CDMX, México.
moon_dem01@hotmail.com, rosarior@hotmail.com

RESUMEN

En este trabajo se reportan cuatro compuestos obtenidos a partir de la coordinación de un ligante orgánico derivado de la condensación de etilendiamina, 2,3-dihidroxibenzaldehído y un catión de Eu^{3+} . Los materiales obtenidos presentan capacidad de emisión luminiscente. La síntesis de dichos materiales se realizó mediante tres rutas diferentes. Los espectros de excitación y emisión de estos compuestos permiten predecir las condiciones de reacción favorables para su obtención.

INTRODUCCIÓN

Definimos luminiscencia como la emisión de luz estimulada por la absorción de energía. Aunque la energía de excitación se genera típicamente por absorción de fotones, también podría ser generada por un campo eléctrico o por radiación ionizante (M. D. Allendorf, 2009). Para que se produzca luminiscencia, la velocidad de extinción de la emisión de radiación debe competir con la degradación térmica de energía mediante pérdida de calor hacia el medio (Duward F. Shriver, 1998).

Por muchos años, una de las formas de obtener compuestos luminiscentes ha sido la incorporación de iones lantánidos a una estructura molecular. Lumóforos como el Eu(III) y Tb(III) son de especial interés por sus bandas de emisión estrechas, incluso en solución. Desafortunadamente, las transiciones Ln están prohibidas, de acuerdo a lo descrito por la regla de selección de Laporte, lo cual conlleva a rendimientos cuánticos bajos (M. D. Allendorf, 2009). El detrimento en los rendimientos puede ser mejorado cuando existen grupos cromóforos adecuados en las estructuras moleculares que generan la emisión ya que éstos tienen la función de actuar como sensibilizadores que transfieran energía a los iones lantánidos (Wai-Kwok Wong, 2006).

Dentro de la Química un grupo orgánico muy empleado es el grupo imino (bases de Schiff). Hugo Schiff describió la condensación entre un aldehído y una amina para obtener como producto una base de Schiff en 1864. Los ligandos de bases de Schiff son capaces de coordinar los metales por medio del nitrógeno de la imina y otro grupo, por lo general ligado con el aldehído de partida (Styring, 2012).

Diversas bases de Schiff han sido sintetizadas para ser utilizadas como ligandos orgánicos en la formación de estructuras más complejas. Un grupo de bases de Schiff muy empleado en Química son los ligandos salen.

Cuando hablamos de lantánidos, una de sus propiedades más importantes es la actividad óptica (luminiscencia) que poseen, las cuales tienen su origen en las características especiales de su configuración electrónica (Bettencourt-Dias, 2014). Estas propiedades luminiscentes dependen de las características físicas y químicas de la red que los aloja, así como de su estructura y dimensiones.

Debido a la naturaleza de las transiciones prohibidas $f-f$, la excitación de los iones lantánidos requiere de fuentes que promuevan la emisión a través de un sensibilizador o "antena" adjunta. El efecto antena consiste en un sensibilizador que colecta energía, por ejemplo, mediante absorción de fotones. (Bettencourt-Dias, 2014). En este trabajo empleamos dichas bases de Schiff para sintetizar compuestos de coordinación con europio (III) que exhiben propiedades luminiscentes características del europio, los cuales, pueden servir para la preparación de materiales luminiscentes con una amplia gama de aplicaciones como dispositivos electroluminiscentes.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales

Todos los reactivos fueron adquiridos de Sigma-Aldrich con una pureza >99%, los disolventes utilizados fueron previamente destilados para alcanzar un grado de pureza >99%.

Desarrollo experimental.

Se siguieron 4 diferentes rutas de síntesis utilizando el ligante salen variando las condiciones de reacción y evaluando las propiedades luminiscentes del producto final. La tabla 1 muestra las variables consideradas para cada ruta.

Tabla 1. Rutas de síntesis y las variables consideradas

RUTA DE SÍNTESIS			VARIABLES		
MÉTODO	SCHLENK	EN3	SAL	CONDICIONES DE REACCIÓN	RECRSITALIZACION
ETAPAS			Eu(III)	1)EtOH, 79°C	
1)Base de Schiff			Eu(NO ₃) ₃	2)EtOH, 79°C, N ₂	N/A
2) Metaloligando				3)MeOH, MeCN,	
3) Adición del eslabón				TEA 65°C, N ₂	
MÉTODO	SCHLENK	EN DOS		1)EtOH	
ETAPAS			EuCl ₃	2)EtOH, MeCN,	(EtOH:Éter)
1)Base de Schiff				TEA, N ₂	
2)Metaloligando con eslabón					
SÍNTESIS POR MICROONDAS EN UNA ETAPA			EuCl ₃	1) EtOH, MeCN, TEA	(DMSO/ MeCN); (CH ₂ Cl ₂ /EtOH)
1) Síntesis de Metaloligando con eslabón					
SÍNTESIS A TEMPERATURA AMBIENTE EN UNA ETAPA			EuCl ₃	1)DMF, TEA	(DMSO/ MeCN); (CH ₂ Cl ₂ /EtOH)
1) Síntesis del metaloligando con eslabón					

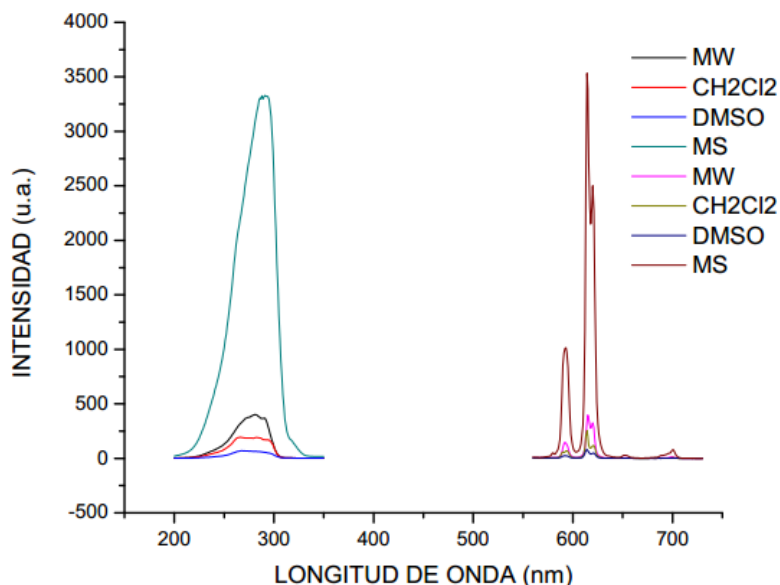
RESULTADOS

En la Tabla 2 se muestran los resultados luminiscentes de los productos obtenidos mediante las diferentes rutas de síntesis.

Tabla 2. Resultados de la experimentación

RUTA DE SÍNTESIS			RESULTADOS			
MÉTODO	SCHLENK	EN3	PRODUCTOS	TIEMPO	EMISIÓN	EXCITACIÓN
ETAPAS			-	16 h	611nm	406nm
MÉTODO	SCHLENK	EN DOS				
			-	3.5 h	616nm	289 nm
SÍNTESIS POR MICROONDAS EN UNA ETAPA			MO, CH ₂ Cl ₂ , DMSO	1 min	615nm	280nm
SÍNTESIS A TEMPERATURA AMBIENTE EN UNA ETAPA			MS	1 min	615nm	300nm

De las dos rutas de síntesis se obtuvieron cuatro compuestos con propiedades luminiscentes los cuales se compararon y cuyos resultados se muestran en la gráfica 1



Gráfica 1. Espectros de excitación y emisión de los compuestos sintetizados

Los compuestos CH₂Cl₂ y DMSO son derivados del compuesto MO recristalizados en mezcla de disolventes CH₂Cl₂/EtOH (1:4) y DMSO/ MeCN (1:9) respectivamente

CONCLUSIONES

Cuatro rutas de síntesis fueron realizadas y aquellas que incluyen menos etapas, condiciones menos agresivas y menos variabilidad en el medio de reacción mostraron mejores resultados.

El método de síntesis juega un papel fundamental en el desempeño luminiscente de los compuestos organoetálicos ya que define su estructura.

El ión europio tiende a formar enlaces de coordinación fácilmente con los contraiones y moléculas de disolvente (Wei-Yu Bi, 2008). También se considera que la polaridad del disolvente tiende a intervenir en el acercamiento π - π de los anillos aromáticos entre las moléculas (Alvarez R. D.-T., 2011).

BIBLIOGRAFÍA

- Alatorre, J., Cano, E., & Otero, R. (2009). Catálogo florístico de las plantas medicinales de la selva baja subcaducifolia de Acapulco México. *Boletín. Instituto de Estudios Giennenses*, 231-288.
- Altieri, M. (1999). *Agroecología Bases científicas para una agricultura sustentable*. Lima: Editorial Nordan-Comunidad.
- Alvarez, R. D.-T. (2011). Coordinating ability of anions and solvents towards transition metals and lanthanides. *Dalton Transactions*, 40, 10742.
- Alvarez, R. D.-T. (2011). Coordinating ability of anions and solvents towards transition metals and lanthanides. *Dalton Transactions*, 40, 10742.

BANOBRAS. (2002). *PROGRAMA MUNICIPAL DE DESARROLLO URBANO DE ATLIXCO, PUEBLA*. ATLIXCO, PUEBLA.

Bettencourt-Dias, A. d. (2014). *Luminescence of Lanthanide Ions in Coordination Compounds and Nanomaterials*. John Wiley & Sons.

Bonnier, G., & De Layens, G. (1999). *Claves para la determinación de plantas vasculares*. Barcelona: Ediciones Omega, S.A.

Boyd, M. (1987). *Química Orgánica*. México: Pearson.

Calderón de Rzedowski, G., & Rzedowski, J. (2001). *Flora Faberogámica del Valle de México*. Pátzcuaro, Michoacán: Instituto de Ecología, A.C.

Callejas, C. M. (2006). *Flora Medicinal de San Bartolo Tutotepec, Hidalgo*. Pachuca de Soto, Hidalgo: UAEH.

Canales, M., & et al, .. (2006). Análisis cuantitativo del conocimiento tradicional de las plantas medicinales en San Rafael, Coxcatlán, valle de Tehuacán-Cuicatlán, Puebla, México. *Acta Botanica Mexicana*, 21-43.

Céspedes, M. (2005). *Agricultura Orgánica Principios y prácticas de producción*. Chillán: Instituto de Investigaciones Agropecuarias.

CIE 10, O. P. (2003). *CIE10, Clacificación Estadística Internacional de las Enfermedades y Problemas Relacionados con la Salud*. Ginebra: Ginebra,OMS 1992.

CONABIO, C. N. (2011). En CONABIO. Puebla, México: Gobierno del estado de Puebla.

CONABIO, C. N. (2011). Insectos de Puebla. En G. d. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, *La biodiversidad en Puebla. Estudio de Estado* (págs. 142-148). México.

CONABIO, C. N. (2012). Biodiversidad Mexicana. Recuperado el 4 de Diciembre de 2016, de Selvas Secas: <http://www.biodiversidad.gob.mx/ecosistemas/selvaSeca.html>

DGCS-UNAM. (14 de Julio de 2013). *Dirección general de comunicación social* . Obtenido de http://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2013_425.html

Duward F. Shriver, P. W. (1998). *Química inorgánica, Volumen 2*. Reverte.

Flores, J. S. (1995). *La contaminación y sus efectos en la salud y el ambiente*. México, D. F: Centro de Ecología y Desarrollo.

García, G. (2015). *Plantas medicinales de Aguascalientes*. México: Universidad Autónoma de Aguascalientes.

García, I., & Vázquez, B. (2002). *Catálogo de Plantas Medicinales del Hospital Integral con Medicina Tradicional de Coxcatlán*. Puebla: Gobierno del Estado de Puebla.

García, I., & Vázquez, B. (2002). *Catálogo de Plantas Medicinales de Plantas Medicinales del Hospital Integral con Medicina Tradicional de Huehuetla*. Puebla: Gobierno del Estado de Puebla.

García, I., & Vázquez, B. (2002). *Catálogo de Plantas Medicinales del Hospital Integral con Medicina Tradicional de Huehuetla*. Puebla: Gobierno del Estado de Puebla.

García, I., & Vázquez, B. (2002). *Catálogo de Plantas Medicinales del Hospital Integral con Medicina Tradicional de Tulcingo del Valle*. Puebla: Gobierno del Estado de Puebla.

Gómez, A., Gómez, L., Pulido, M. T., & Sánchez, S. (2015). *Catálogo de Plantas Medicinales y otros Usos de la Sierra Otomí-Tepehua Hidalgo*. Hidalgo: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Gonzales, M., Lorena, L., Socorro, G. M., & Tena, J. A. (2014). *Plantas Medicinales del Estado de Durango y Zonas Aledañas*. México: Instituto Politécnico Nacional.

Guzmán Palma Jesús Antonio, R. R. (2015). *Determinacion de metales pesados en el grano de maíz (CB-052)* . Atitalaquia: -.

- Hernández, T., Canales, M., Caballero, J., Durán, Á., & Lira, R. (2005). Análisi cuantitativo del conocimiento tradicional sobre plantas utilizadas para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales en Zapotitlán de las Salinas, Puebla, México. *Interciencia*, 17-27.
- Hersch, M. P. (2009). La flora medicinal en comunidades indígenas. En S. d. Nación multicultural-UNAM, *Estado del desarrollo económico y social de los pueblos indígenas de Guerrero*. Mexico.
- INAFED. (s.f.). *Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México*. Recuperado el 20 de Septiembre de 2016, de INAFED:
<http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM21puebla/municipios/21175a.html>
- INEGI. (2009). *Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos Atlixco, Puebla*. Recuperado el 02 de Diciembre de 2016, de
<http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/datos-geograficos/21/21019.pdf>
- IVHHN, L. R. (s.f). LOS PELIGROS DE LAS CENIZAS VOLCÁNICAS PARA LA SALUD .
- Joby Sebastian, D. S. (2014). Effects of method of preparation on catalytic activity of Co-Zn double-metal cyanide catalysts for copolymerization of Co₂ and epoxide. *Applied A: General, General 482*, 300-308.
- Krap, C. P. (2010). Nuevos materiales para almacenamiento de hidrogeno en nanocavidades. México.
- Lagos, W. S., & et al. (2011). Manual de Herramientas Etnobotánicas relativas a la Conservación y el Uso Sostenible de los Recursos Vegetales. En L. Lagos, D. Sanabria, P. Chacón, & G. Randall, *Estrategia Global para la Conservación* (págs. 1-134). Chile: Red Latinoamericana de Botánica (RLB).
- M. D. Allendorf, C. A. (2009). Luminescent metal–organic frameworks. *Chemical Society Reviews*, 38, 1330–1352.

- Martínez, A., & et al. (2012). PLANTAS SILVESTRES ÚTILES Y PRIORITARIAS IDENTIFICADAS EN LA MIXTECA POBLANA, MÉXICO. *Acta Botánica Mexicana*, 73-98.
- Martínez, G. (2007). Estudio etnobotánico en la comunidad de San Juan de los Ríos, Chiautla, Puebla. *Tesis de Licenciatura*.
- Méndez, M. E., & et al. (2016). Flora medicinal. En *Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán* (págs. 349-352). Mérida: Yucatán.
- Mendoza, H. (1985). *Guía Del Cultivo De Higuierilla*. Ecuador: INAP.
- Métivier, P. (2000). *Studies in Surface Science and Catalysis*. 130, 167.
- Mondragón, L. (2007). *Producción de jitomate en invernadero*. Estado de México, México: Gobierno del Estado de México. Secretaría de Desarrollo Agropecuario. Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria Acuícola y Forestal del Estado de México, ICAMEX.
- Ortega, G. (Diciembre de 2009). *FAO*. Obtenido de <http://www.baseis.org.py/wp-content/uploads/2014/03/1395155082.pdf>
- Pérez, P. M. (2009). Plantas medicinales: un complemento vital Para la salud. *Revista Digital Universitaria*, 1-9.
- Rodríguez, M., Villaseñor, J. L., Coombes, A. J., & Ceron, A. B. (2014). *Flora del Estado de Puebla, México*. Mexico: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Rzedowski, J. (1991). Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México. *Acta Botánica Mexicana*, 3-21.
- SAGARPA. (Agosto de 2010). *SAGARPA*. Obtenido de <http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/documents/pablo/documentos/monografias/jitomate.pdf>
- Sauve, S. H. (2000). *Solid- Solution Partitioning of Metals in Contaminated Soils: Dependence on pH, Total Metal Burden, and Organic Matter*. -: Environmental Science Technology.

Styring, S. (2012). Artificial photosynthesis for solar fuels. *Faraday Discussions*, 155, 357-376 .

Universidad Autónoma de Tlaxcala. (2011). *Catálogo Botánico Ilustrado de Tepetates en Tlaxcala*. Tlaxcala: Universidad Autónoma de Tlaxcala.

Valiente, I. (2011). *Inventario Etnobotánico en tres localidades de la Sierra Negra, Puebla*. Puebla: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Villavicencio, M. A., & Pérez, B. E. (2013). *Plantas Medicinales del Estado de Hidalgo*. Pachuca de Soto: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Wai-Kwok Wong, X. Y.-K. (2006). Multinuclear Luminescent Schiff-Base Zn–Nd Sandwich Complexes. *Inorganic Chemistry*, 45(11), 4340–4345.

Wei-Yu Bi, X.-Q. L.-L.-J.-R.-K. (2008). Synthesis, structure and near-infrared (NIR) luminescence of three solvent-induced pseudo-polymorphic complexes from a bimetallic Zn–Nd Schiff-base molecular unit. *Inorganic Chemistry Communications*, 11, 1316–1319.

Yanling Liang, C. Y. (2013). Prussian blue analogues as heterogeneous catalysts for epoxidation of styrene. *Royal Society of Chemistry*, 0, 1-3.

Zulueta, R., & et al. (Enero-Abril de 2006). ¿Es útil la flora de la selva baja caducifolia de México? *La ciencia y el hombre. Revista de divulgación científica y tecnológica de la Universidad Veracruzana*. Recuperado el 4 de Diciembre de 2016, de La ciencia y el hombre: <http://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol19num1/articulos/flora/>

SINTESIS Y CARACTERIZACION DE BENCIMIDAZOLES 1,2-DISUSTITUIDOS EMPLEANDO ACIDO P-AMINOBENZOICO

Andrea Noemí Medrano Cruz, Itzia Irene Padilla Martínez, Efrén Venancio García Báez

Instituto Politécnico Nacional, Laboratorio de Química Supramolecular y Nanociencias-UPIBI
Email: egarciaba@ipn.mx, ipadillamar@ipn.mx, noemisita_bonita_@hotmail.com

RESUMEN

Los bencimidazoles son compuestos bioactivos heterocíclicos privilegiados utilizados con éxito en la práctica clínica de innumerables enfermedades. Existen una gran variedad de síntesis a nivel laboratorio para obtener dichos derivados, sin embargo algunos de estos métodos duran más de 24 horas, lo que provoca un elevado costo de la síntesis y bajos rendimientos. En el presente trabajo se sintetizaron derivados de bencimidazoles disustituídos a partir de la reacción del 1-Fluoro-2-Nitrobenceno con ácido p-aminobenzoico (PABA) en DMSO durante 3 horas en agitación a una temperatura de 130°C seguido de la reacción con aldehídos catalizadas con metabisulfito de sodio 1 hora.

INTRODUCCION

Los bencimidazoles son moléculas de alta importancia farmacéutica. La primera síntesis de un bencimidazol fue descrita por Hobrecker en 1872 por la reducción de 2, nitro-4-metilacetanilida (Clemens Lamberth et. al, 2012). De 1872 a 1878 Landerburg obtuvo 2,5 (o 2,6) dimetilbencimidazol por reflujo con ácido acético glacial en solución con 3,4 diaminotolueno (Klaus Hofman, 2009). En 1950 se encontró que 5,6-dimetil-1-(alfa-D-ribofuranoil) bencimidazol formaba parte integral de la vitamina B12. Meticulosos y numerosos estudios demostraron su efecto beneficioso en el tratamiento de enfermedades producidas por parásitos. En 1961 se descubre el tiabendazol, medicamento antihelmíntico, por modificaciones en su estructura, se sintetizaron miles de compuestos bencimidazólicos (M. Luz Lopez, 1996) iniciando así una cascada de patentes. Más tarde en 1962 se reportó un sulfinilbencimidazol por Gorczyca en la academia médica en krakow, y en 1980 la empresa farmacéutica "Astra" comercializa el omeprazol, medicamento que inhibe la bomba de protones (Clemens Lamberth, 2012).

MARCO TEÓRICO

Benzimidazol, como su nombre lo indica, es un sistema bicíclico, formado por condensación de un benceno en posición - 4 - y - 5 - de un heterociclo (imidazol). Los Compuestos benzimidazólicos y bencilcarbamatos son materias cristalinas, los cuales pueden poseer características ácidas, básicas o ambas según presenten o no sustituciones en los átomos de N del anillo imidazol. (M. Luz López, 1996). La forma de enumerarlo es el siguiente, figura 1.

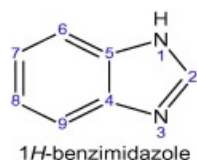


Figura 1. Estructura química del bencimidazol. Aunque el nombre más común es bencimidazol también puede encontrarse como 1H-bencimidazol o 1,3-benzodiazol. (Mohammad Shaharyarb et. al, 2012).

Los bencimidazoles han demostrado un amplio espectro de acción, algunas de sus actividades farmacológicas son antidiabéticos, antihistamínicos, analgésicos, antivirales, antifúngicos, y antimicrobianas. Los compuestos que poseen la molécula de benzimidazol expresan una actividad significativa contra varios virus como el VIH, Herpes, HSV-1 y la influenza. Los bisbencimidazoles en el ADN poseen agentes vinculantes de actividad antitumoral (Dawood Kamal, 2010). Como ya se mencionó en los antecedentes, existen una gran variedad de síntesis a nivel laboratorio para obtener bencimidazoles, sin embargo algunos de estos métodos duran más de 24 horas, lo que provoca un elevado costo de la síntesis y bajos rendimientos, e incluso el uso de algunos catalizadores como NaOH o HCl en la síntesis de Ladenburg que se muestra a continuación llega a romper el anillo del bencimidazol.

PARTE EXPERIMENTAL

La presente reacción se llevó a cabo en dos etapas.

Primera etapa. Una mezcla de 1 Fluoro, 2 Nitrobeneno (141 mg, 1mmol) y ácido p-aminobenzoico (125mg, 1mmol) junto con 2 ml de DMSO, figura 2 se colocaron en un matraz de bola de 100 ml con boquilla 24/40 en reflujo con agitación magnética, cada hora se tomó una muestra de la reacción, en una cromatoplaaca de aluminio de 2x4 cm y eluente acetato de etilo hexano 5:5, para observar el avance de la reacción.

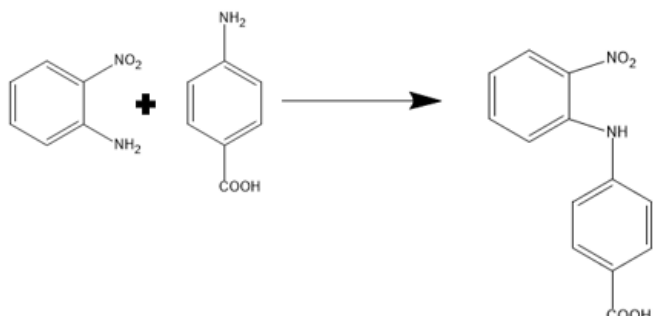


Figura 2 Primer reacción para sintetizar el primer producto 4-(2-nitrofenilamina) ácido benzoico.

Segunda etapa de la reacción, figura 3, después de 2 horas de reacción se adiciono el metabisulfito de sodio junto con el salicilaldehido y se completo la reacción por una hora mas.

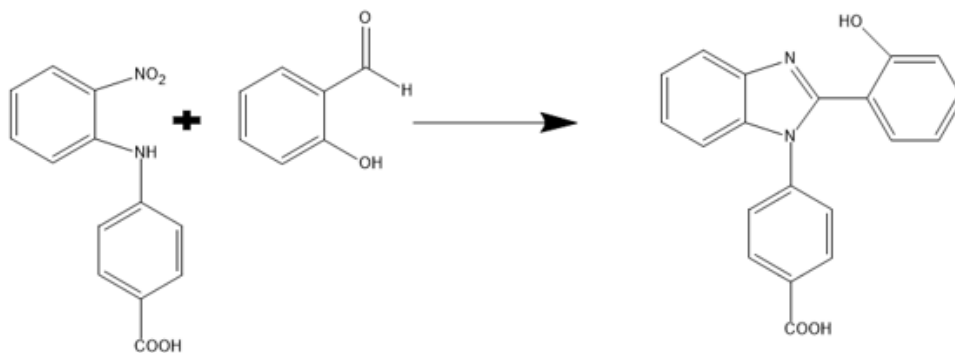


Figura 3. Obtención de 4-(2-(2-hidroxifenil)-1 H-benzo(d) imidazol-1-il) ácido benzoico, añadiendo 146.54 mg, 1.2mmol de salicilaldehido.

Después, se separó el compuesto adicionando H₂O y extrayéndolo con acetato de etilo mediante la separación de 2 fases, la fase acuosa que es agua-DMSO-Bisulfito de sodio y la fase orgánica que es el benzimidazol con acetato de metilo de interés. Se evapora el acetato de metilo en un rotavapor y se obtuvo un material naranja viscoso listo para la caracterización.

RESULTADOS Y DISCUSION

El material viscoso naranja se analizó por medio de la espectroscopia de RMN de ¹H y de ¹³C empleado un equipo de RMN de 300MHZ-Varian, el disolvente empleado fue DMSO-D6.

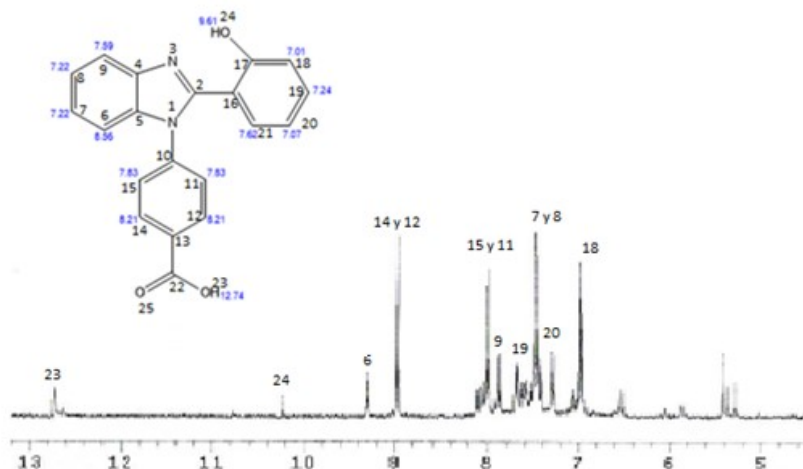


Figura 4. Espectro de RMN de ^1H del bencimidazol sintetizado.

La figura 1 muestra el espectro de RMN de ^1H de compuesto sintetizado, en donde a 12.7 ppm aparece un señal simple muy desplazada la cual es asignada al H23 de ácido carboxílico del sustituyente 1 de heterociclo de bencimidazol, a 10.2 ppm aparece una señal la cual puede ser asignada al H 24 fenol, entre 7 a 8.5 ppm aparecen las señales que se asignan a los H aromáticos de los 3 anillos arilo presentes en el bencimidazol.

Con respecto al espectro de RMN de ^{13}C , figura 5. Se observa que a 170 ppm aparece una señal

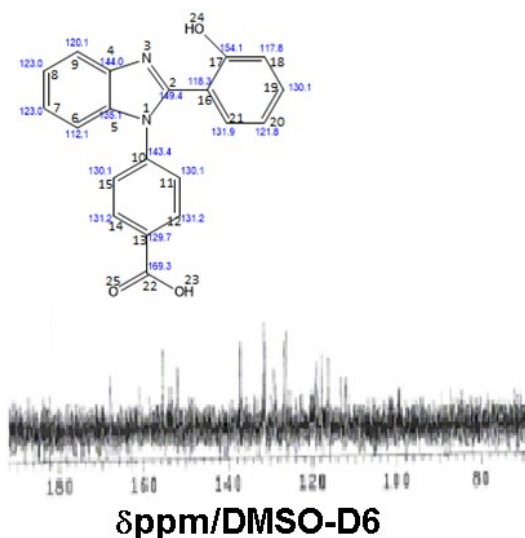


Figura 4. Espectro de RMN de ^1H del bencimidazol sintetizado

Que es asignada al C22 de ácido carboxílico, a 154 ppm aparece la señal asignada al C17 del fenol, 150 ppm aparece la señal asignada al C2 del heterociclo del bencimidazol. Entre 140 a 110 ppm aparecen las señales de todos carbonos de los anillos aromáticos faltantes.

CONCLUSIONES

Hasta el momento se logró realizar la síntesis de bencimidazol tomando como base el ácido p-aminobenzoico, el 1-fluoro-2-nitrobenzoceno y salicilaldehído, caracterizando el crudo de reacción por medio de la RMN de ^1H y de ^{13}C .

Estamos en la etapa de caracterizarlo adecuadamente y obtener cristales y realizar el estudio cristalográfico para saber la estructura molecular del sistema.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Secretaría de Investigación y Posgrado del Instituto Politécnico Nacional por el presupuesto otorgado al proyecto 20160338 y la beca BEFI a la alumna NMC.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Clemens Lamberth, Jürgen Dinges, 2012, Bioactive Heterocyclic Compound Classes: Pharmaceuticals
- 2) Dawood Kamal, A.-W. B., Synthetic routes to benzimidazole-based fused polyheterocycles. ARKIVOC 2010, (i), 333-389.
- 3) M. Luz Lopez García, 1996, Madrid, Potenciación de la actividad antihelmíntica del albendazol mediante modificaciones en su biodisponibilidad y metabolismo.
- 4) Mohammad Shaharyar, Avijit Mazumdera, 2012, King Saud University, Benzimidazoles: A biologically active compounds.
- 5) Klaus Hofman, 2009, The Chemistry of Heterocyclic Compounds, Imidazole and Its Derivatives Volume 6 of The Chemistry of Heterocyclic Compounds Volume 12 of Chemistry of Heterocyclic Compounds: A Series Of Monographs

USO DE MICROONDAS EN REACCIONES DE ACOPLAMIENTO CARBONO-CARBONO

Carlos Felipe Hernández Fuentes, Paulina Garnica Chávez, Ricardo Antonio Méndez Mendoza y María del Rosario Ruíz Guerrero

CIITEC Azcapotzalco, IPN. charlos_552@hotmail.com, rosarior@hotmail.com

RESUMEN

El siguiente trabajo tiene como objetivo el estudio de reacciones de acoplamiento carbono-carbono con catalizadores de paladio II asistidas por microondas para la síntesis de macromoléculas y compuesto de química fina con elevados rendimientos, para lo cual se desarrollaron diversas metodologías para el acoplamiento entre el bromo fenol y el ácido fenil borónico. Se desarrolló un sistema eficiente de reacción de acoplamiento carbono-carbono utilizando sales de paladio II.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas ha surgido un creciente interés en el área de la química fina debido a su aportación en la síntesis de precursores en campos como la salud, la agricultura y la ciencia de materiales. Las reacciones químicas más estudiadas son la que involucran la formación de enlaces carbono-carbono y enlaces carbono-heteroátomo (O, N, S), debido a la elevada demanda de los compuestos que forman. Las investigaciones se han enfocado en la mejora de los sistemas de obtención de productos, con el uso de nuevos sistemas catalíticos y la disminución de disolventes.

Un gran avance para la construcción de macromoléculas fue el surgimiento de un revolucionario tipo de reacciones químicas conocidas como "reacciones de acoplamiento cruzado" en la década de los 70 las cuales consisten principalmente en la formación de un enlace carbono-carbono mediante la reacción de un nucleófilo con un electrófilo, ambos de naturaleza orgánica.

Dentro de estas reacciones destacan las reacciones de Heck-Mizoroki, Suzuki-Miyaura y Sonogashira, En el siguiente trabajo se estudia el efecto de las microondas en diversos sistemas catalíticos en reacciones de acoplamiento carbono-carbono a partir de sales de paladio II.

TEORÍA

La química fina, comprende numerosas industrias especializadas y es capaz de proporcionar productos de estructuras complejas desde el punto de vista de la realización productiva y de la investigación previa a la producción. A diferencia de la química industrial, que se preocupa de los procesos a gran escala, la química fina se preocupa del estudio a nivel de laboratorio; está relacionada a la producción de diversos productos químicos, de la caracterización de nuevos compuestos y del estudio de sus reacciones además de utilizar procedimientos de análisis químico y técnicas de química analítica que permitan establecer métodos efectivos de control, conocer la calidad de los materiales y de los productos. Una de sus ventajas es que contribuye significativamente a establecer métodos de preservación del medio ambiente. Con la síntesis orgánica se es capaz de formar estructuras idénticas a las naturales.

La reacción de Suzuki-Miyaura es una de las más versátiles y ampliamente utilizada en la formación selectiva de enlaces carbono-carbono y particularmente en la formación de biarilos asimétricos. Debido a su utilización en numerosas rutas sintéticas, algunas de ellas a nivel industrial como la producción de Losartan, una droga antidepresiva comercializada por Merck, se están llevando a cabo en los últimos años numerosos trabajos con la finalidad de optimizar las condiciones de reacción en cuanto a temperatura, disolvente, ligandos, recuperación, reciclaje del catalizador, etc. Otra de las importantes ventajas de esta reacción es el uso como sustrato de ácidos arilborónicos debido a su gran abundancia, disponibilidad comercial, bajo coste, baja toxicidad y fácil separación de los subproductos que contienen boro del producto de reacción⁴⁹⁻⁵⁷.

Esta reacción se produce entre un ácido arilborónico y un haluro de arilo o vinilo generalmente en un disolvente orgánico, y en presencia de un catalizador de Pd (0) o Pd(II). El ciclo catalítico clásico propuesto para la reacción de Suzuki-Miyaura (**Figura 1.**) utiliza un catalizador de paladio que oscila entre dos estados de oxidación Pd (0) y Pd(II) durante el curso de la reacción.

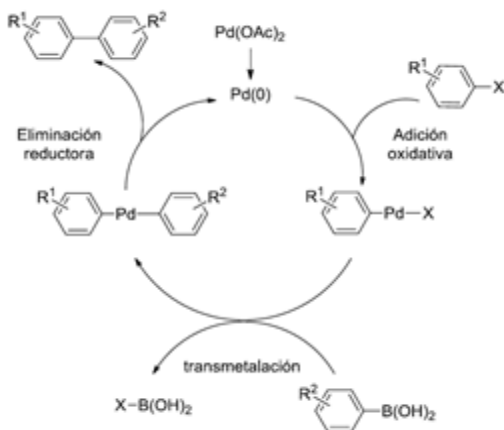


Figura 1. Mecanismo de reacción de Suzuki-Miyaura

Generalmente, se parte de un pre-catalizador de Pd(II), el primer paso es la reducción *in situ* del pre-catalizador a Pd (0). A continuación, se produce la adición oxidante del haluro de arilo para formar el intermedio de Pd(II). Posteriormente, tiene lugar la transmetalación del ácido arilborónico y, por último, se produce la eliminación reductora dando lugar al producto de reacción y la especie catalítica de Pd (0) que dará comienzo a un nuevo ciclo catalítico.

A diferencia de otros tipos de reacciones de acoplamiento cruzado, en las que también se produce un paso de transmetalación, la reacción de Suzuki-Miyaura requiere la utilización de una base para formar con el ácido borónico un intermedio rico electrónicamente que resulte más reactivo que el propio ácido borónico original, y de este modo, facilitar la transmetalación con el complejo de paladio.

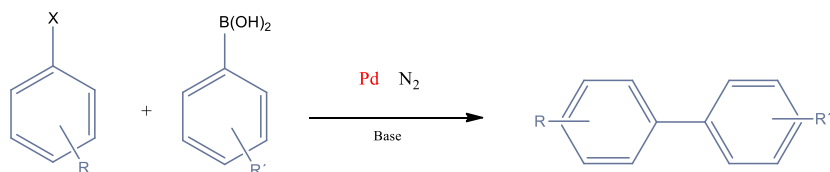


Figura 2. Reacción de acoplamiento Suzuki-Miyaura

El acoplamiento de Suzuki-Miyaura se ha convertido en el estándar para la construcción de biarilos funcionales, teniendo mayor presencia y aplicación éste proceso en la química médica. La reacción de acoplamiento Suzuki-Miyaura conjuga fragmentos químicamente diferenciados que participan en los procesos electrónicamente divergentes con el catalizador de metal. Además, la etapa oxidativa se produce con grupos orgánicos formalmente electrófilos, por lo que el paladio se oxida a través de su donación de electrones para formar el nuevo enlace Pd-C. Sin embargo, se produce la transmetalación con grupos orgánicos formalmente nucleófilos, que son transferidos del boro hacia el paladio. Esta secuencia de reactividad entre la adición oxidativa y la etapa de transmetalación permite que dos similares, pero distintos, componentes sean unidos en el acoplamiento cruzado, formando así la base de esta metodología importante.

Las reacciones en síntesis orgánica asistidas por microondas se caracterizan por la aceleración producida en muchas de ellas, como consecuencia de un calentamiento que no puede ser reproducido utilizando una fuente energética clásica. La radiación de microondas es una alternativa al calentamiento convencional para introducir

energía en las reacciones, que aprovecha la capacidad que poseen algunos compuestos para transformar la energía electromagnética en calor.

En el espectro electromagnético, la región de microondas está localizada entre el infrarrojo y las ondas de radio (**Figura 3.**). Las longitudes de onda están comprendidas entre 1 mm y 1 m, correspondientes a frecuencias entre 0.3 y 300 GHz, empleadas en su mayor parte por los sistemas de detección por radar y telecomunicaciones. Para evitar interferencias, la mayoría de los instrumentos de microondas domésticos y comerciales operan a 2.45 GHz, que corresponde a una longitud de onda de 12.2 cm.

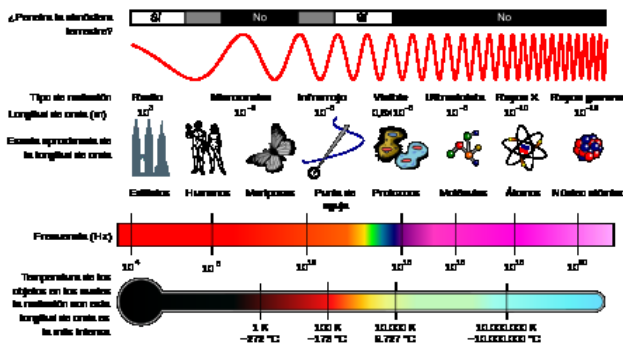


Figura 3. Diagrama del espectro electromagnético de microondas

La radiación de microondas provoca calor por dos mecanismos: polarización dipolar y conducción iónica. Mientras los dipolos en la mezcla de reacción están implicados en los efectos de polarización dipolar, las partículas cargadas están afectadas por la conducción iónica.

Una transformación química "ideal" transcurriría a temperatura ambiente y alcanzaría una conversión completa en pocos minutos. Muchos procesos requieren elevadas temperaturas con tiempos de reacción de muchas horas o incluso días para conducir a la conversión completa.

PARTE EXPERIMENTAL

Los reactivos empleados en la síntesis de los materiales pertenecen a la marca Sigma Aldrich. Los disolventes utilizados, grado técnico, marca Meyer, fueron purificados por métodos tradicionales de destilación para su posterior uso.

Se llevaron a cabo tres reacciones, la primera a condiciones normales de temperatura y dos posteriores asistidas por microondas. La síntesis asistida por microondas se llevó a cabo en dos equipos. El primero fue un equipo convencional modelo Micro Fridge MF-3TP con una potencia de Salida del microondas de 600 W, la temperatura se midió con un termómetro de infrarrojos modelo amprobe 750, el segundo fue un equipo de calentamiento asistido por microondas modelo Anton-Par Monowave 300 con potencia máxima de salida de 500 W con control de temperatura y de presión.

En las dos etapas de la experimentación se trabajó con la reacción base de acoplamiento para la obtención de 4-fenilfenol a partir del 4-bromofenol y el de ácido fenil borónico (**Figura 4.**).

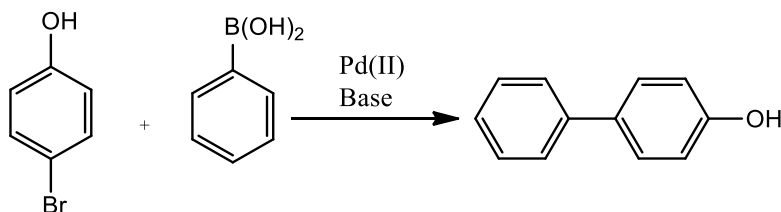


Figura 4. Reacción base de acoplamiento

Reacción convencional.

En un matraz de 25 ml se colocaron 1 mmol de 4-Bromo fenol en 5 ml de cloroformo. A continuación, se agregaron 1mmol de ácido fenil borónico, 0.5 mmol de fenol como patrón interno, 0.2%mol de Acetato de paladio y 10mmol de líquido iónico. Posteriormente, se agregó 4 ml de solución acuosa 1M de KOH. La mezcla se agitó por 2 horas a temperatura ambiente.

Reacciones en microondas

Microondas convencional

La reacción en equipo de microondas convencional se adaptó a un recipiente de 3 mL de vidrio pyrex. La emisión de microondas es constante y no controlable, para evitar el sobrecalentamiento y el exceso de presión en el reactor se utilizaron ciclos *On/Off* de 8 segundos, tiempo en el cual la temperatura alcanzada (verificada con un termómetro infrarrojo Amprobe IR 750) no rebasaba los 70 °C, y posteriormente se enfriaba en baños de agua fría hasta alcanzar la temperatura ambiente.

En un recipiente de 3 mL se colocaron 1 mL de cloroformo, 1 mmol de 4-Bromo fenol, 1mmol de ácido fenil borónico, 0.5 mmol de fenol como patrón interno, 0.2%mol de Cloruro de paladio y 4mmol de KOH disueltos en 1 ml agua . Se colocó el reactor en el microondas y se utilizaron ciclos *On/Off* de 8 segundos hasta tener un acumulado de 3 minutos. Entre ciclo y ciclo posterior al enfriamiento la mezcla era agitada manualmente.

MICROONDAS CON CONTROL DE CALENTAMIENTO

En un reactor de 10 mL se colocaron 3 ml de cloroformo, 1 mmol de 4-Bromo fenol, 1mmol de ácido fenil borónico, 0.5 mmol de fenol como patrón interno, 0.2%mol de Cloruro de paladio y 4mmol de KOH disueltos en 1 mL agua. Se fijó un tiempo de reacción de 20 minutos a una temperatura de 70° C.

RESULTADOS

La reacción a temperatura ambiente generó un rendimiento del 80% en 120 minutos.

De las dos primeras reacciones en microondas, la reacción en microondas convencional presentó mejores rendimientos. La eficiencia fue de un 99% en 2 minutos de reacción (**Figura 5**).

La reacción en equipo de microondas monowave 300 presento un rendimiento del 14% en un tiempo de 20 min.

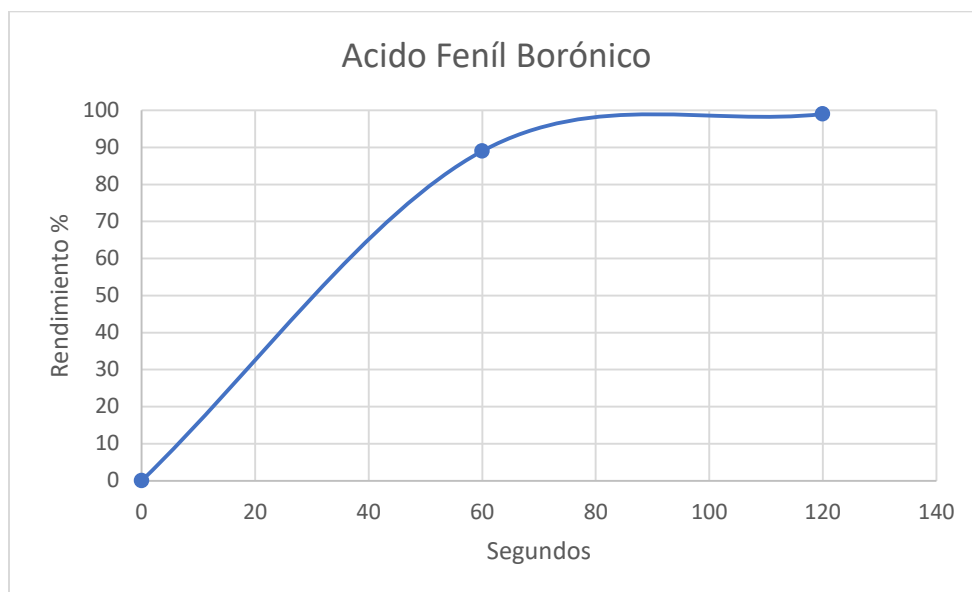


Figura 5. Reacción en microondas

CONCLUSIONES

De manera general se puede aseverar que las reacciones en microondas ayudan a disminuir los tiempos de reacción. El uso de microondas ayuda al incremento de la eficiencia en la reacción al disminuir los tiempos de reacción y producirse el calentamiento desde el interior de la molécula

El equipo convencional obtuvo mejores resultados al lograr la formación del 4-fenilfenol en solo 2 minutos con un 99%.

La emisión constante de microondas facilita el acoplamiento de los arilos.

BIBLIOGRAFÍA

1. M. Beller, A personal view on important developments in homogeneous catalysis; Springer Series in Chemical Physics, 2004, 75, 365-401.
2. M. Beller and A. Zapf, Fine chemical synthesis with homogeneous palladium catalysts: examples, status and trends; Top. Catal., 2002, 19, 101.
3. Corma and H. Garcia, Lewis Acids: from conventional homogeneous to green homogeneous and heterogeneous catalysis; Chem. Rev., 2003, 103, 4307- 65.
4. M. Beller and A. Zapf, Fine chemical synthesis with homogéneo
5. Heck, R. F. & Nolley Jr., J. P. (1972) Palladium-catalyzed vinylic hydrogen substitution reactions with aryl, benzyl, and styryl halides. J. Org. Chem. 37:2320-2322.
6. R. F. Heck, "Palladium Reagents in Organic Synthesis", Academic Press, 1985.
7. Catalyzed by Palladium. Bull. Chem. Soc. Jpn. 44: 581-581.
8. Nicolaou, K. C., Bulger, P. G. & Sarlah, D. (2005) Palladium- Catalyzed Cross- Coupling Reaction in Total Synthesis. Angew. Chem. Int. Ed. 44: 4442-4489.
9. N. Miyaura and A. Suzuki, Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Organoboron Compounds; Chem. Rev., 1995, 95, 2457-83.
10. H. N. Nguyen, X. Huang, and S. L. Buchwald, The First General Palladium Catalyst for the Suzuki-Miyaura and Carbonyl Enolate Coupling of Aryl Arenesulfonates; J. Am. Chem. Soc., 2003, 125, 11818-9

SÍNTESIS DE AZOPOLÍMEROS USANDO POLIESTIRENO EXPANDIDO

Mendieta Valadez Erik, Marañón Ruiz Virginia Francisca, Roger Chiu Zárate, Jesús Castañeda Contreras, Rubén Arturo Rodríguez Rojas, Héctor Pérez Ladrón de Guevara, Miguel Mora González.

Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de los Lagos. División de Estudios de la Biodiversidad e Innovación Tecnológica. Enrique Díaz de León 1144, Col. Paseos de la Montaña, 47460, Lagos de Moreno, Jalisco, México. vmaranonr@gmail.com

RESUMEN

La contaminación ambiental es una problemática universal, gran parte de la contaminación proviene de los residuos sólidos urbanos difíciles de reciclar, en especial los que tardan gran tiempo en degradarse, como son los materiales plásticos. El poliestireno expandido (EPS) mejor conocido en México como unicele, se encuentra comúnmente en presentaciones como: vasos y platos térmicos desechables y tiene una vida promedio de degradación muy longeva de hasta 800 años y es un material no reciclado. En éste proyecto se presenta como generar azopolímeros a través de poliestireno reciclado. La metodología a seguir fue la siguiente: se hizo reaccionar el poliestireno con una mezcla nitrante y se obtuvo el nitroestireno, el cual se hizo reaccionar para obtener anilinstireno con una mezcla de Sn/HCl la cual al término de la reacción de reducción se neutralizó con NaOH. El anilinstireno se hizo reaccionar con NaNO₂/HCl para generar sales de diazonio de estireno y por último se hizo reaccionar con diferentes derivados aromáticos (anilina, fenol y resorcinol) para obtener finalmente los correspondientes poliazoestireno con un rendimiento global del 50- 72 %. Los azopolímeros obtenidos fueron de color amarillo-naranja y rojo dependiendo del derivado aromático empleado para diazotizar. Los polímeros sintetizados fueron caracterizados mediante técnicas espectroscópicas como UV-Vis, cuyo máximo de absorción se obtuvo entre 350-450 nm, y un mínimo en 288 nm correspondiente al grupo azo. En FT-IR mostró los siguientes picos característicos en cm⁻¹: una banda ancha para enlaces (OH o NH) (3400), C-N (1360), C=N (1537), C=Caromático (2000-2500). Mediante esta metodología se puede comprobar el re-uso de EPS con buenos rendimientos y se propone como una técnica viable para la preparación de azopolímeros como materiales altamente versátiles cuyas aplicaciones tecnológicas son muy variadas.

INTRODUCCIÓN

El poliestireno puede ser modificado mediante tres reacciones químicas, la primera, una reacción de nitración, la cual se lleva a cabo en disolución con cloruro de metileno que le permite minimizar la producción de subproductos; la segunda será la reacción de reducción con estaño como catalizador en un medio ácido, obteniendo la polianilina; y por último la reacción de diazotización, donde se incorporará un grupo azo, que le brindará la propiedad de absorber radiación electromagnética en el espectro de luz visible al polímero, de esta manera se formará un azopolímero. Los azopolímeros son compuestos altamente versátiles debido a que tienen la propiedad de cambiar su distribución en el espacio al ser irradiados con un laser de luz polarizada, por este particular comportamiento son denominados materiales inteligentes.

TEORÍA

Poliestireno expandido

En México conocemos el unicele que, también se conoce como Poliestireno expandido, (Poly Styrene Expanded, PSE), el cual es un polímero termoplástico, que se obtiene al polimerizar la unidad básica, que es el estireno (figura 1). El PSE es un polímero no biodegradable, ya que no se descompone o degrada de manera natural al no ser una fuente común de sustrato para los microorganismos, por ende no se pudre ni enmohece ^[1]. Su estructura (como se observa en la imagen), consta de un anillo aromático, que puede ser usado como punto base para varias reacciones químicas, para obtener un producto totalmente distinto que sea útil.

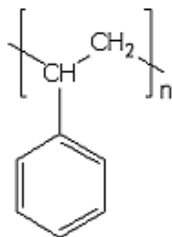


Figura 1. Monómero de poliestireno

Azocompuesto

Se denomina azocompuesto a aquellas sustancias en el que el grupo azo, tiene unidos a ambos lados grupos alquilo o arilo. El grupo azo, se caracteriza por tener un par de átomos de nitrógeno enlazado por un doble enlace (N=N), lo cual le confiere una estructura plana, con sus respectivos electrones π , responsables de la isomerización, debido a la rotación del doble enlace de los nitrógenos, es decir, un azocompuesto puede transitar en disposiciones *Cis-Trans-Cis* ^[2].

El azocompuesto aromático más sencillos es el azobenceno (figura 2), y es la sustancia fundamental de los colorantes azoicos ^[3]. Estos compuestos son conocidos desde el siglo XIX, donde se usaron ampliamente por la industria de los colorantes, principalmente en Alemania ^[4] pero sus propiedades ópticas han hecho que sean objeto de estudio en la actualidad.

Los azocompuestos de cadena abierta (alifáticos) presentan una absorbancia cercana a una longitud de onda de 350 nm, mientras que el azobenceno, tiene una absorbancia característica en el espectro UV-Visible a una longitud de onda de 320-350 nm ^{[5] [6]}.

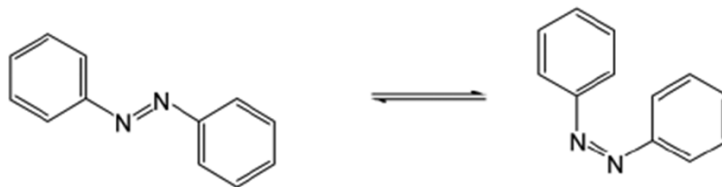


Figura 2. Equilibrio *trans-cis* del azobenceno

Azopolímeros.

Cuando el grupo azo se incorpora a un polímero, su fotoisomerización puede tener una variedad de consecuencias en su distribución espacial, las propiedades ópticas radican en la particularidad del grupo azo ^[7] ^[8]. Se han realizado diversos estudios con estos materiales y se descubrió que cuando ciertos grupos azobenceno se encontraban disueltos en una matriz de polímero, las unidades de azobenceno se fotoisomerizan en presencia de luz linealmente polarizada y eventualmente se orientan perpendicularmente al eje de polarización del láser, produciendo dicroísmo y birrefringencia en una película ^[7]. Estas propiedades llevaron a considerarlos como materiales inteligentes, ya que tienen la propiedad de cambiar su distribución espacial al ser irradiados con un láser de luz polarizada, siendo altamente versátiles ^[9].

PARTE EXPERIMENTAL

Reacción de nitración

El poliestireno (PS) se colocó en una mezcla nitrante (ácido sulfúrico y ácido nítrico, 1:1), la reacción se siguió por cromatografía, al obtener el polinitroestireno (PNS) se neutralizó con hidróxido de sodio (NaOH) y se lavó el sólido con agua destilada por 24 horas en agitación magnética, para terminar se secó en el horno a 80°C por 4 horas.

Reacción de reducción

Primero, se activó el estaño en un baño de hielo con ácido clorhídrico (HCl), posteriormente el polinitroestireno (PNS) que previamente había sido diluido en Cl_2CH_2 se agregó a la solución ácida con estaño, enseguida se

colocó a reflujo y se siguió por cromatografía, al tener el producto (polianilina) se neutralizó con NaOH, se decantó y se evaporó el Cl_2CH_2 , finalmente se lavó con agua destilada y se secó en el horno a 80°C por 4 horas.

Reacción de diazotización.

La polianilina obtenida se colocó a reflujo con acetona para disolverlo, cuando se encontró una solución homogénea se llevó a baño de hielo, después se agregó una mezcla de nitrito de sodio con agua destilada, posteriormente una solución de HCl, con el fin de formar una sal de diazónio. Para finalizar se añade el anillo bencénico sustituido (fenol, anilina, resorcinol, según cada reacción) diluido en HCl, se esperó alrededor de 10 minutos, el producto se neutralizó y se decantó. Se obtuvieron finalmente los correspondientes poliazostirenos con un rendimiento global del 50- 72 %.

A los tres productos obtenidos (poliazofenol PAF, poliazooanilina PAA, poliazoresorcinol PAR), se les realizaron pruebas de solubilidad, al elegir el solvente adecuado para cada compuesto, se continuó con la caracterización por UV-Vis, donde se tomaron 25 mg para diluir en 25 mL, y se realizaron disoluciones las cuales se analizaron mediante el Espectrofotómetro Cary-60. Además fueron analizados por espectroscopia FT-IR con ATR en el equipo FT-IR Frontier de Perkin Elmer para caracterizar los grupos funcionales de los azopolímeros obtenidos mediante ésta metodología.

RESULTADOS

Espectroscopía UV-Vis.

Después de analizar mediante UV-Visible con el equipo Cary-60, se obtuvieron las siguientes espectros, los cuales corresponden a la PAA y PAR (Figura 3).

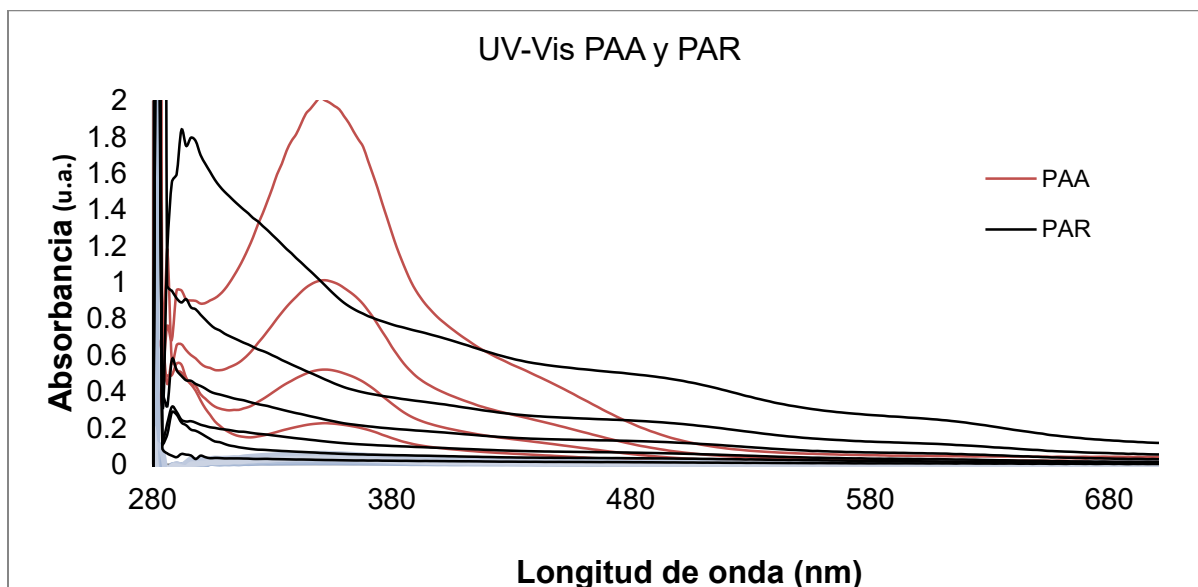


Figura 3. Espectros UV-Vis de los azopolímeros PAA y PAR

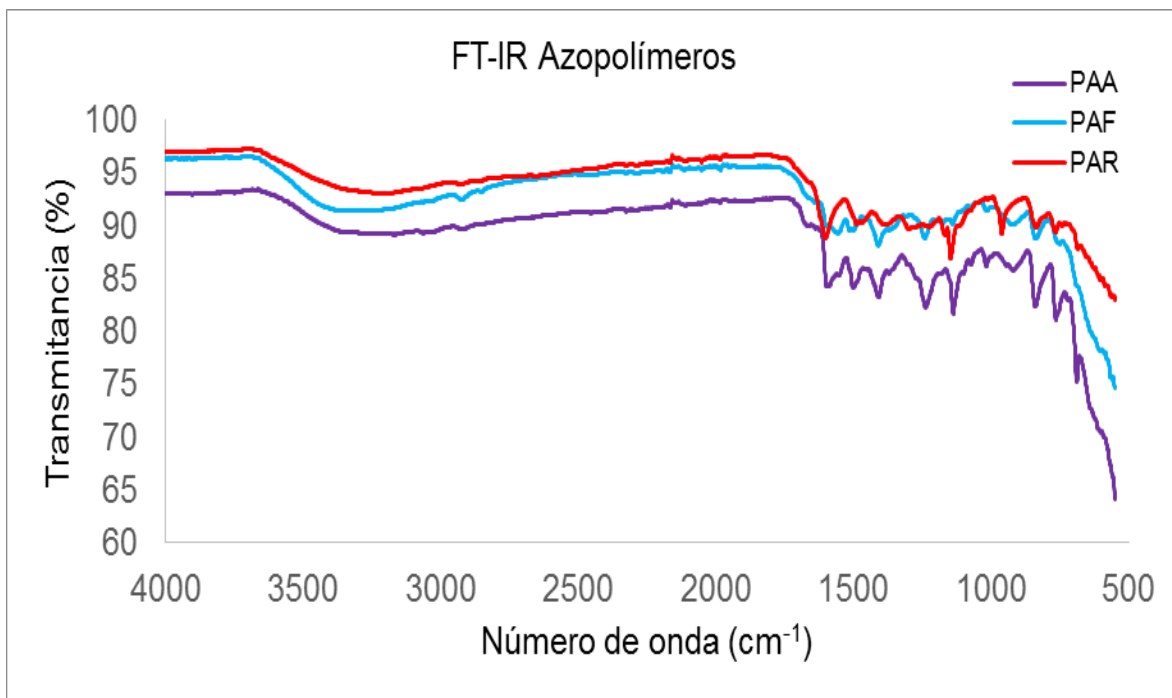


Figura 4. Espectros de FT-IR de los azopolímeros derivados de estireno expandido

En todos los espectros de los tres azopolímeros obtenidos se mostró la absorción cercana a los 288 nm, que se le asigna al equilibrio *cis-trans* del grupo azo ($N=N$). El espectro correspondiente a la PAA, muestra una absorción máxima a los 352 nm, con lo cual se confirma la presencia de un azocompuesto basado en la absorbancia característica de estos compuestos. El espectro que corresponde al PAR, presenta una absorción máxima a los 290 nm, correspondiendo a el grupo azo presente y un hombro alrededor de 370 nm que se prolonga en el espectro hacia la región batocrómica. La absorciones presentadas entre 350-450 nm corresponden a las transiciones electrónicas de $\pi\pi^*$ características de la hiperconjugación de los anillos aromáticos y la presencia del grupo azo. Por otra parte el espectro del PAF, es muy similar al espectro de PAA y tiene un máximo de absorción a 350 nm el cual no es presentado en éste trabajo.

Espectroscopía FT-IR

Los azopolímeros se sometieron al espectro infrarrojo, con el fin de completar la información aportada por los espectro UV-Vis, los espectros se muestran en la figura 4, donde el color violeta corresponde al espectro de la poliazobanilina, el azul al poliazofenol, por último el rojo corresponde al poliazoresorcinol.

El espectro infrarrojo presenta varias señales representativas, en los más representativos destaca a los $1400-1450\text{ cm}^{-1}$, debido a que son los correspondientes al grupo azo ($N=N$), además están presentes enlaces OH o NH según el azopolímero a los 3400 cm^{-1} , a un número de onda de 1537 cm^{-1} se observa señales correspondientes a enlaces $C=N$, además las vibraciones de los enlaces carbono carbono ($C=C$) pertenecientes a las estructuras aromáticas a los $2000-2500\text{ cm}^{-1}$, por último en el espectro se denota la presencia a 1360 cm^{-1} que corresponde a las vibraciones características de los enlaces $C-N$.

CONCLUSIONES

Las técnicas espectroscópicas ayudaron a caracterizar los azopolímeros derivados del poliestireno expandido. La presencia alrededor de 300 nm es la señal característica del grupo azo el cual es el grupo funcional que se está tratando de sintetizar por éste método. Las señales de absorción alrededor 350-450 nm corresponden a las interacciones de $\pi\pi^*$ de la hiperconjugación del sistema aromático de los azopolímeros obtenidos.

En los espectros de FT-IR se confirma también la presencia de los azopolímeros con los picos en las regiones de $1000-1450\text{ cm}^{-1}$, reafirmando lo ya conocido por el espectro UV-Vis.

Por último, el rendimiento global obtenido por ésta metodología hace viable el reuso del poliestireno expandido, como una técnica alternativa para usar nuevamente un polímero que se considera altamente contaminante

debido a su largo proceso de desintegración. Los azopolímeros obtenidos por éste procedimiento, pueden ser empleados como agentes fotosensibles. Este procedimiento se convierte en una alternativa viable para disminuir la contaminación de este residuo longevo.

BIBLIOGRAFÍA

1. C. Solís, "Características del poliestireno expandido", Ficha técnica: EPS KNAUF Therm Th35SE, 2005.
2. P. De Maria, A. Fontana, C. Gasbarri, G. Siani, P. Zanirato, "Kinetics of the Z-E isomerization of monosubstituted azobenzenes in a polar organic and aqueous micellar solvents", ARKIVOV Inc. Vol 8, 2009, pp. 16-29.
3. H. Beyer, W. Walter, "Manual de química orgánica" 19ª ed. Reverte, Barcelona Esp, 1987. Cap. 4, pp. 602.
4. S. Weininger, F. Stermitz, "Química orgánica". (Reverte, Barcelona Esp, 1988), Chapter pp. 974.
5. J. Mohan, "Organic spectroscopy: principles and application" 2nd edition. (Alpha science international Ltd. Harrow UK. 2004), Chapter 3, pp. 155.
6. E. Merino, M. Ribagorda, "control over molecular using the cis-trans photoisomerization of the azo group" BEILSTEIN, Vol 8, 2012, pp. 1071-1090.
7. E. Rivera, "Los azopolímeros: materiales inteligentes con respuesta a la luz". Sociedad Química de México, Revista Bol. Soc. Quím. Méx, Vol. 2, 1, 2008, pp. 24-34.
8. T. Todorov, L. Nikolova, N. Tomova, "Polarization holography: A new high-efficiency organic material with reversible photoinduced birefringence" Appl. Opt. 23, 1984, pp. 4309 - 4315.
9. O.G. Saavedra, T. García, C. Caicedo, E. Rivera, "Non linear optical properties of novel amphiphilic azo-polymers bearing well defined oligo (ethylene glycol) spacers". Revista Mexicana de Física Vol. 56, 6, 2010, pp. 449-455

ANÁLISIS POR CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC) DE DERIVADOS DEL ÁCIDO SALICÍLICO CON ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Raquel Nava Alvarez, Minerva Juarez Juarez, Pedro Miranda Reyes, Emma Bolaños Valerio

Instituto Politécnico Nacional, UPIBI
(rnavaa@ipn.mx, mjuarezju@ipn.mx, pmirandar@ipn.mx, ebolanos@ipn.mx)

RESUMEN

Debido al gran crecimiento demográfico y ante el reto de la aparición de nuevas enfermedades, durante las últimas décadas se han desarrollado nuevas moléculas con efecto terapéutico; por otro lado, se sabe que existen fármacos de origen natural o que se han obtenido de manera sintética mejorando su actividad farmacológica, con una dosis efectiva más pequeña y sin efectos secundarios o adversos ^(1,2).

En este trabajo se lleva a cabo el análisis cualitativo y cuantitativo por cromatografía de líquidos (HPLC) de derivados del ácido salicílico, compuesto con posible actividad terapéutica y susceptible de ser empleado como principio activo en un fármaco; dicho análisis se realizó mediante HPLC, técnica analítica que permite identificar y cuantificar cantidades pequeñas del orden de ppm, se preparan diluciones de los derivados del ácido salicílico a concentraciones que pudieran ser detectables y cuantificables en la cromatografía, utilizando diferentes proporciones de fases móviles.

Se concluye que la cromatografía es una buena técnica para determinar derivados salicílicos y cumarínicos. Dichos derivados salicílicos mostraron una buena linealidad, precisión y exactitud de la curva estándar lo cual servirá para estudios posteriores de otros derivados que puedan ser analizados por esta técnica.

INTRODUCCIÓN

A lo largo de la historia el descubrimiento de las cumarinas, se ha generado gran interés por su actividad biológica y debido a ello se han desarrollado diversos métodos para su síntesis química. El primero fue Pékin en 1868, quien la sintetizó calentando una mezcla de salicilaldehído, anhídrido acético y acetato de sodio. Después de esto la investigación en nuevos métodos de síntesis de cumarinas se incrementó, siendo la condensación de Knoevenagel una de las más utilizadas, al ser un método sencillo y accesible por no requerir reactivos caros o condiciones anhidras ⁽¹⁾. Existen variantes de la condensación de Knoevenagel como el uso de salicilaldehído y malonato de dietilo como reactivos y etanol como disolvente ⁽¹⁾.

Debido a la variedad estructural de estas moléculas, surgen diversas aplicaciones biológicas y farmacológicas asociadas al anillo cumarínico, dichas aplicaciones pueden ser: protectores vasculares, fragilidad capilar, antiinflamatorios, antiespasmódicos (cólicos, dolor intestinal), vasodilatadores coronarios, sedantes, anticoagulantes, antibacterianos, antivirales, antihelmínticos, antioxidantes y con acción hipodérmica ⁽¹⁾.

Actualmente la búsqueda de nuevos fármacos con estructuras moleculares novedosas que presenten efectos terapéuticos, ha ido aumentando debido a la existencia de enfermedades para las cuales no existen tratamientos o bien para potenciar su actividad farmacológica cuando no hay medicamentos efectivos, además de disminuir la dosis administrada.

La cromatografía es un método muy empleado para la separación, identificación y determinación de los componentes químicos de las mezclas complejas. Estos métodos tienen en común el empleo de una fase estacionaria y una fase móvil. Los componentes de una mezcla se hacen pasar a través de una fase estacionaria mediante el flujo de una fase móvil y las separaciones están basadas en las diferencias en la velocidad de migración entre los componentes de la fase móvil ⁽²⁾.

El uso de técnicas cromatográficas ha sido de gran interés tanto en la industria como en el área de investigación, debido a su alta reproducibilidad en los datos. Sin embargo, se necesita validar estos métodos para cumplir con las normas establecidas y así asegurar la fiabilidad de estos métodos. ⁽²⁾.

PARTE EXPERIMENTAL

El equipo de cromatografía utilizado fue un HPLC Varian 9010 con un detector de UV-Vis; empleando para la separación una columna C-18 fase reversa de 25cm de longitud, 4.6 mm de diam, 5 micras de tamaño de partícula; la separación cromatográfica fue realizada a temperatura ambiente. El tipo de elución empleada es isocrática, con un caudal de 1 mL/min la fase móvil empleada fue metanol/agua en una proporción (90:10)

Para la preparación de la fase móvil se utilizaron Metanol y agua grado HPLC (Fermont), se filtran a través de una membrana de nylon de 0.22 μ m de diámetro de poro y 47 mm de diámetro posteriormente se des gasificó mediante sonicación durante 20 min.

Cabe mencionar que la solubilidad es un factor importante en la caracterización de nuevas moléculas, ya que si no se tiene el analito en disuelto en una matriz no es posible llevar a cabo un análisis cualitativo o cuantitativo. Por lo anterior, se llevó a cabo un estudio de solubilidad de la molécula en cuestión.

Por ello nos dimos a la tarea de realizar de manera cuantitativa un estudio de solubilidad.

El cual consistió en colocar 0.1mg/3 mL de una mezcla metanol-agua en proporciones 50:50, 60:40, 70:30, 80:20 y 90:10; por otra parte, se colocó 1 mg en 5 mL de metanol (0.2 mg/mL). Posteriormente las mezclas se colocaron en baño María a 37° C durante 2 minutos. Después se agregó 5 gotas de NaOH a la mezcla con proporción de metanol 50:50, 60:40, 70:30.

Se agitaron los tubos y se observó si existía una solubilidad total. Se observó que las muestras que se les adicionaron unas gotas de la base fuerte y aquellos en los que se les aplicó una mayor temperatura presentaron precipitación en ambos casos, por lo que no se utilizaron en los siguientes experimentos.

El estudio de solubilidad arrojó que la mejor mezcla es metanol/agua 90:10, ya que a esta proporción el compuesto presenta una completa solubilidad

Para llevar a cabo el estudio de las moléculas mediante cromatografía de líquidos (HPLC), es importante tomar en cuenta, la longitud de onda máxima del compuesto, el flujo de la fase móvil, empleada (tabla 1).

Para determinar la longitud de onda máxima del compuesto es necesario llevar a cabo un análisis espectrofotométrico, para lo cual se prepara una disolución (0.2 mg/mL) en una mezcla de Metanol-Agua (90:10) con agitación constante hasta su completa homogenización, posteriormente se hicieron diluciones para obtener concentraciones de 0.005, 0.010, 0.015, 0.020, 0.025, mg/mL; las soluciones preparadas se filtran con membranas de Nylon de 0.45 μ m y se inyectan al equipo cromatográfico por cuadruplicado

RESULTADOS

En la tabla 1 se presentan las condiciones generales para el análisis cromatográfico. Y en la tabla 2 se muestran los resultados que se obtuvieron del análisis por cromatografía.

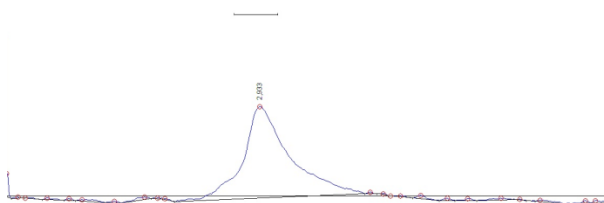
Tabla 1. Condiciones generales para análisis mediante HPLC

Fase móvil	Metanol - agua (90:10)
Volumen de inyección (μ L)	40
Tiempo de corrida (min)	7.0
Flujo (mL/min)	1.0
Longitud de onda, λ (nm)	318
Tiempo de retención (min)	3.1

Tabla 2. Datos generados en HPLC para la construcción de la curva de calibración.

Concentración (mg/mL)	Área bajo la curva
0.0	0.0
0.005	0.5388
0.010	1.8197
0.015	2.5975
0.020	4
0.025	5.511

En la figura 2 y 3 se muestra el cromatograma de la molécula estudiada y la curva tipo obtenida del análisis cromatografico



(Tiempo (min))

Fig. Cromatograma del 5-H-CIN en la mezcla de metanol/agua proporciones 90:10

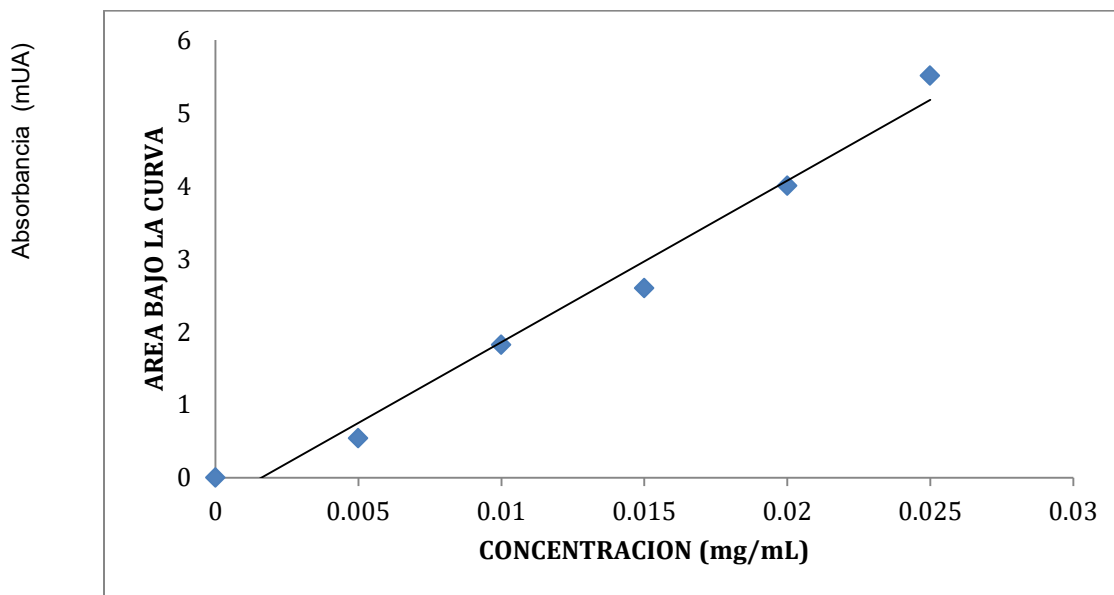


Figura 2. Curva tipo del 5-H-CIN del estudio cromatógrafico para la proporción (90:10)

$$\text{Area bajo la curva} = (221.24 * \text{Concentración}) - 0.3543 \quad R^2 = 0.9869$$

CONCLUSIONES

Las mezclas de disolventes de metanol-agua en la proporción de 90:10, permitieron la mejor solubilidad del 5-H-CIN. Y en el análisis cromatográfico y espectrofotometría UV-Vis, la mezcla de metanol/agua en la proporción de (90:10), fue la que permitió una mejor separación cromatográfica.

El método cromatográfico es preciso y exacto para la determinación bajo las condiciones utilizadas, además que presento una buena linealidad.

La cromatografía es una buena técnica para determinar derivados salicil cumarínicos como el 5-H-CIN

BIBLIOGRAFÍA

1. Avendaño, Y. A. (2015). *Síntesis, caracterización y evaluación del efecto antiinflamatorio y gastroprotector de Ácido 2-Hidroxi-5-(3-Carboxiamido Cumarinil) benzoico*. México, Instituto Politécnico Nacional.
2. Skoog D. A, West D.M, Holler F.J, Crouch S.R. (2000). *Fundamentos de Química Analítica*. 8a edición, pag 931-953

EL PAPEL DE GCN5 UNA ACETIL TRANSFERASA DE HISTONAS EN EUKARIOTAS

Yahaira Karina González Hernández, Yazmin Hernández Díaz, Dalila Rubí Mena Hernández, Gerardo Daniel Amezcua Hernández, Víctor Manuel Arias López, Ana del Carmen Jiménez López y Cuauhtémoc Solano Pérez.

División Multidisciplinaria de Jalpa de Méndez.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Ranchería Rivera Alta, Jalpa de Méndez, Tabasco, México.

RESUMEN

Las modificaciones de las histonas influyen en el proceso de transcripción, el cual es muy importante para la regulación de la expresión de genes en todos los organismos. La acetilación de las histonas está involucrada en la estructura del nucleosoma, desempeñando un papel destacado en los procesos de activación de la cromatina, necesarios para la transcripción de genes. Estas acetilaciones son llevadas a cabo por enzimas denominadas Acetiltransferasas de Histonas (HAT), que se encargan de acetilar residuos de lisina en las histonas mediante la transferencia de un grupo acetilo. Su acción enzimática es fundamental para diversos procesos celulares. Estas enzimas suelen actuar de manera conjunta formando complejos multiproteínicos como el caso del complejo SAGA (Spt-Ada-Gcn5), en el cual la proteína GCN5 tiene función de HAT. GCN5 ha sido implicada en una variedad de procesos celulares en diversos organismos eucariotas, por lo que se ha sugerido que es altamente conservada. Método: Hemos realizado una búsqueda sistemática a través de bases de datos (Pubmed y EBSCO) estableciendo diversos criterios de inclusión y exclusión. Resultados: GCN5 regula el crecimiento, respuesta a estrés y genes de respuesta a la luz en plantas y hongos, además, participa en el mantenimiento de los telómeros en humanos. Cabe resaltar que se describen el papel que juega en otros organismos. **Conclusión:** GCN5 funciona como coactivador transcripcional y contribuye en la regulación de diversos procesos en una variedad de organismos eucarióticos.

INTRODUCCION

Las enzimas denominadas acetiltransferasas de histonas (HAT) se encargan de acetilar residuos conservados de lisinas de las histonas. La GCN5 es una proteína la cual tiene una función HAT. Las enzimas HAT son conocidas en la actualidad como las encargadas de la acetilación de residuos Lys específicos los cuales son cruciales en las interacciones de los nucleosomas con otras proteínas.

Todos los miembros HAT son pertenecientes a varias familias proteicas entre las cuales cabe destacar la familia de las MYST y la familia de las GCN5 o GNAT. Uno de los papeles importantes es la participación a nivel de la transcripción de los organismos (Jin Q. *et. al.* 2011). GCN5 juega un papel importante en las funciones celulares, desde la regulación del ciclo celular hasta la reparación del daño del ADN. Aunque GCN5 ha sido recientemente implicado en ciertos papeles oncogénicos, su papel en la progresión del cáncer de hígado sigue siendo escaso (Majaz *et al* 2016).

Empleando la biología molecular, investigadores y científicos han sido capaces de estudiar y caracterizar las proteínas acetiltransferasas y en especial GCN5. Esta enzima suele actuar de manera conjunta formando complejos multiproteínicos como el caso del complejo SAGA/TFTC (Spt-Ada-Gcn5 y TFTC en humanos) y ADA (adenosin deaminasa). Esta revisión provee datos que pueden facilitar al investigador la toma de decisiones acerca de cómo estudiar y examinar la proteína GCN5 buscando posibles estrategias experimentales que debe usar en su investigación.

OBJETIVO

En este trabajo describimos las características de las GCN5 y el papel que juegan en los organismos eucarióticos ya que es un papel importante en el proceso de la transcripción y como una alteración a esto puede causar alteraciones de la cromatina, incluyendo la información de los genes, complejos, géneros y/o especies de organismo eucarióticos donde ya se han estudiado dicho elemento.

PARTE EXPERIMENTAL

Estrategia de búsqueda e identificación de los estudios

Se realizó una búsqueda exhaustiva en bases de datos electrónicas incluyendo PubMed y EBSCO para identificar publicaciones relevantes de la asociación de la proteína GCN5 y su relación con otros complejos y proteínas con las que interactúa, con la última búsqueda actualizada hasta el 05 de febrero de 2017. Se utilizaron diferentes combinaciones de términos que incluyen: GCN5 o familia GNAT, complejo SAGA o SAGA/TFTC (Spt-Ada-Gcn5 y TFTC en humanos), complejo ADA o adenosin deaminasa.

Criterios de inclusión y exclusión

Los criterios de inclusión fueron: (1) estudio que analizaran el papel de GCN5 y (2) estudios publicados en revistas indexadas y (3) artículos publicados en inglés. Los criterios de exclusión fueron: (1) publicaciones duplicadas; (2) los resúmenes, comentarios y opiniones y (4) la insuficiencia de datos reportados.

Extracción de datos

La siguiente información se extrajo cuidadosamente por los mismos autores: autores, año de publicación, tipo de organismo y especie y métodos para el estudio.

RESULTADOS

GCN5 es una proteína altamente conservada en el paso de la evolución. Fue una de las primeras proteínas HAT en ser identificadas y fue nombrada así por sus compuestos representativos. Las HAT actúan como co-activadores transcripciones o silenciadores de genes y se encuentran a menudo en grandes complejos, algunos HAT poseen un bromodominio que reconoce los residuos acetilados.

En *Arabidopsis thaliana*, GCN5 en conjunto con el complejo proteico enzimático ADA2B tiene la función de regular el crecimiento y el desarrollo al igual que la tolerancia al frío ya que las mutantes de estos genes muestran fenotipos pleiotrópicos, los cuales dan una respuesta alterada a bajas temperaturas, hipersensibilidad a la sal y el ácido abscísico. En otro caso el gen HAF2 en conjunto con GCN5 regulan las señales de la luz y genes de expresión al igual que genes del crecimiento de esta especie. Ambos interactúan e integran para llevar estas funciones a cabo. Los genes TRA1 y TRRAP en conjunto con GCN5 sugiere que TRA1 y TRRAP tiene función como co-activador complejo o promotor específico durante la transcripción. El gen FRD3 y junto con GCN5 indican que son genes claves en la regulación del homeostasis de hierro, y modulan los H3K9/14 de acetilación global, bajo niveles de condiciones deficientes de hierro. Por último GCN5 junto con la doble mutación de HAF2 y HY5, un factor de transcripción bZIP que promueve la expresión de genes inducibles por luz, tienen un efecto sinérgico sobre la longitud de hipocótilo (un rasgo de fotomorfogénesis) y la expresión génica activada por luz bajo diferentes longitudes de onda de luz.

Cabe mencionar que con organismo fungis en *Saccharomyces cerevisiae* GCN4 en conjunto a GCN5, para poder regular la expresión del gen FLO11 y el desarrollo pseudohifal en levaduras diploides, vía GCN4 por disminuir la expresión de ICR1. También regula la expresión de genes implicados en la biosíntesis de aminoácidos regula la expresión de FLO11. GCN4 recluta a GCN5.

a las regiones promotoras de genes implicados en la biosíntesis de aminoácidos. GCN5 acoplado con el complejo SAGA regula genes implicados en el metabolismo de la galactosa. En las especies de *Candida Albicans*, GCN5 participa en el estrés oxidativo y virulencia regula el desarrollo hifal. La delección de este gen provoca cambios en la elongación hifal y atenúa la virulencia de *Candida albicans* en un modelo de infección de ratón. Además, dicha mutante exhibe sensibilidad a varios tipos de estrés. En la especie de *Trichoderma reesei*, GCN5 se encarga del metabolismo del carbón la y la síntesis de aminoácidos, los cuales establecen una función conservada entre TrGcn5 y ScGcn5 (*Saccharomyces cerevisiae* GCN5), en una relación fuerte entre la activada HAT de TrGcn5. Igualmente, GCN5 regula el crecimiento filamentoso ya que tiene un papel crítico en su crecimiento; la morfogénesis y la activación transcripcional ya que contiene genes de celulasa que se encuentran presentes en *T. resei*. En *Homo Sapiens* las proteínas GCN5 promueven la progresión de carcinoma Hepatocelular mediante la regulación de la expresión del gen A1B1. También GCN5 juega un papel importante en el soporte a la asociación de la Proteasa 22, módulo de desubiquitinación con el complejo SAGA.

En la siguiente tabla (tabla 1) se muestran los resultados de las investigaciones de una forma más concreta.

CONCLUSIONES

GCN5 funciona como coactivador transcripcional y contribuye en la regulación de diversos procesos en una variedad de organismos eucariótico.

Los resultados de este trabajo muestran la evidente participación genética de las GCN5 en los diferentes organismos, según su origen se puede concluir que: en hongos en las especies de *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida Albicans* y *Trichoderma ressei* tienen en común que regula el desarrollo hifal, crecimiento filamentoso, al igual que están implicados en la biosíntesis y metabolismos de estas especies, mientras que en plantas se unen a diferentes complejos proteicos que en conjunto se encargan de la regulación del crecimiento, la tolerancia al frío y genes inducidos por la luz. Mientras que en humanos las GCN5 aparte de ser co-activadores transcripcionales, estudios recientes han demostrado que participan en la progresión hepatocelular y también soporte a la asociación de la proteasa 22 con lo que podemos pretender que los mecanismos involucrados en la regulación del ADN, también controlen la reparación del ADN. Una serie de trabajos ha reportado la función de las GCN5 en los organismos eucarióticos. Recientes estudios relacionan a estas enzimas como un factor de mantenimiento, integridad y estabilidad del genoma, al igual que desempeñan un rol en cuestiones como la detección del cáncer en etapa temprana y el envejecimiento. Las células que carecen de GCN5 son sensibles a agentes o factores que dañen la integridad del genoma, por lo tanto, se cree que el GCN5 también tiene un papel importante en la integridad y mantenimiento del genoma.

BIBLIOGRAFÍA

1. F. Moraga, "Composition of the SAGA complex in plants and its role controlling gene expression in response to abiotic stresses", *Frontiers in Plant Science*, October 2015, Volume 6, Article 865.
2. L.C. Wang, "The Histone Acetyltransferase GCN5 Regulates ncRNA-ICRI and FLO11 Expression during Pseudohyphal Development in *Saccharomyces cerevisiae*," in *Hindawi Publishing Corporation, BioMed Research International. Volume 2015 ID: 284692*.
3. S. Majaz, "Histone acetyl transferase GCN5 promotes human hepatocellular carcinoma progression by enhancing AIB1 expression", *Cell & Bioscience* 6:47, (2016).
4. P. Chang, "Function and subcellular localization of GCN5, a histone acetyltransferase in *Candida albicans*", *Fungal Genetics and Biology* 81 (2015) pp. 132-141.
5. B.S. Atanassov, "GCN5 and SAGA Regulate Shelterin Protein Turnover and Telomere Maintenance", *Molecular Cell* 35, August 2009, pp. 352-364.
6. R.J. Burgess, "Roles for GCN5 in Promoting nucleosome assembly and maintaining genome integrity", *Cell Cycle* 9:15, August 2010, pp. 2979-2985.
7. Q. Xin, "Trichoderma ressei Histone Acetyltransferase Gcn5 regulates Fungal Growth, Conidiation, and cellulose Gene Expression", *Curr Microbiol* 67, (2013) pp. 580-589.

EFFECTOS DE LA LONGITUD DE ONDA DE LA LUZ EN LA *EICHHORNIA CRASSIPES*.

González Gutiérrez Gonzalo, Mejía Sánchez Jorge Enrique, Mesa Cornejo Viviana Matilde

Centro Universitario de los Lagos
 Universidad de Guadalajara

RESUMEN

Las plantas acuáticas son parte fundamental del ecosistema natural, pues su contribución en la conversión de dióxido de carbono en oxígeno es vital para otras especies. En algunas ocasiones estas plantas son consideradas como malezas debido a que constituyen problemas para la explotación de embalses, salud humana, crecimiento y reproducción de otras especies. A nivel mundial la *Eichhornia crassipes*, es considerada una de las malezas más importantes debido a su alta tasa de crecimiento y reproducción, ha logrado posicionarse en el lugar número ocho de las especies invasoras por el GEIB (Grupo especialista en invasiones biológicas). Actualmente todos los métodos utilizados para el control de esta maleza muestran deficiencias y altos costos en su aplicación, sumando a esto el posible daño indirecto que métodos como los químicos pudiesen causar a la población. El presente trabajo estudia el comportamiento de la *Eichhornia crassipes* al ser irradiada con diferentes frecuencias del espectro electromagnético de la luz para su posible implementación como método de control para el crecimiento o la reproducción de la planta.

INTRODUCCIÓN

La luz es uno de los factores más importante en el desarrollo de las plantas, pues influye directamente en su crecimiento y reproducción. Esta energía lumínica es absorbida a través de mecanismos conocidos como fotoreceptores que les permiten detectar el espectro, la intensidad, la dirección y la duración de incidencia de la luz. Existen diferentes fotoreceptores que incluyen fitocromos para la absorción en el rojo y rojo lejano, criptocromos para la absorción en el azul y fototropinas que absorben la luz UV-A, entre otros que absorben en regiones del verde [1]. En la figura 1, se muestra como algunos de los procesos biológicos de las plantas están asociados con la absorción de la luz por los diferentes fotoreceptores.

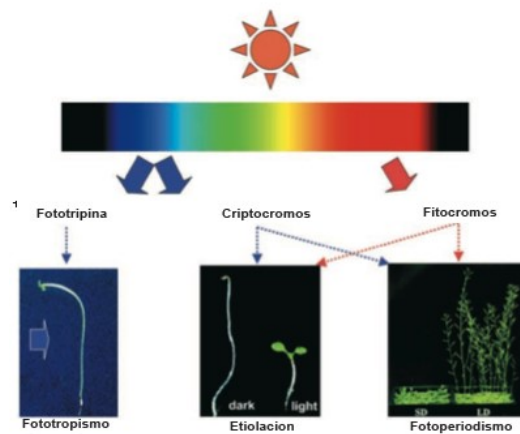


Figura1: Receptores de la luz de acuerdo a su espectro de funcionamiento con algunas de sus respectivas funciones. Las flechas continuas representan la luz, y las flechas discontinuas representan la transducción de señales de los fotoreceptores [6].

La luz solar contiene en su totalidad el espectro electromagnético, por lo tanto es considerada la fuente de luz más económica existente en el planeta tierra. Sin embargo, en algunas partes del mundo la reproducción de las plantas bajo luz artificial ha sido de gran interés económico, principalmente aquellos lugares donde la luz solar es de corta duración y baja intensidad. Debido a esto se han realizado diversos trabajos donde se ha obtenido el espectro de acción necesario para realizar la fotosíntesis y el espectro de absorción para los tres pigmentos

fotosintéticos (clorofila a, clorofila b, y carotenoides). En la figura 2 se muestra como la luz de diferentes longitudes de onda es absorbida por cada uno de los pigmentos. Una comparación del espectro de acción con los espectros de absorción individuales sugiere que la fotosíntesis a 680 nm se debe principalmente a la luz absorbida por la clorofila a, en 650 nm por la luz absorbida por la clorofila b; y en longitudes de onda más cortas, a la luz absorbida por la clorofila b y pigmentos carotenoides [7].

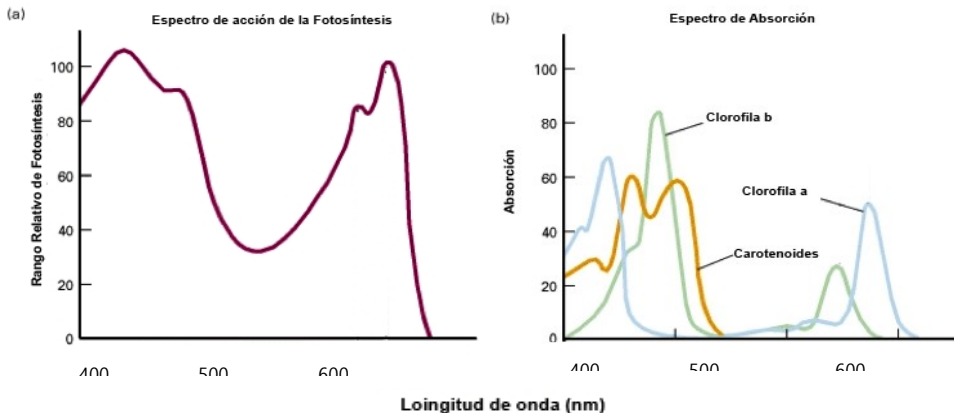


Figura 2: (a) El espectro de acción de la fotosíntesis en las plantas; es decir, la capacidad de la luz de diferentes longitudes de onda para apoyar la fotosíntesis. (b) Los espectros de absorción para los tres pigmentos fotosintéticos: clorofila a, clorofila b, y carotenoides [7].

Comprender como los fotorreceptores de las plantas trabajan para absorber la energía lumínica, es de suma importancia no solo en la cuestión económica, como se mencionó anteriormente, sino la función y la acción de estas proteínas, dan claves importantes para procesos bioquímicos y biotecnológicos que pueden ser aplicados en diferentes áreas. Un ejemplo de lo anterior es el poder controlar lumínicamente el desarrollo de las plantas, ya sea mejorarlo por cuestiones alimenticias o inhibirlo cuando hablamos de plagas. A nivel mundial la *Eichhornia crassipes* (lirio o jacinto de agua) es causante de problemas serios, debido a su alta tasa de crecimiento y reproducción, es un problema ambiental a tal grado que se encuentra en la octava posición de las especies invasoras por el GEIB (Grupo especialista en invasiones biológicas)[3]. En México, un total de 40,000 hectáreas de cuerpos de agua entre embalses, lagos, canales y drenajes están infestados de lirio de agua. Esta plaga acuática afecta principalmente a 21 estados del país, incluyendo Jalisco y Michoacán, donde la problemática se genera en el lago más grande de México, el Lago de Chapala. El objetivo principal de este trabajo es conocer los efectos de la *Eichhornia crassipes* al ser incidida con diferentes frecuencias de luz específica del tal manera que sea posible modificar o afectar su proceso de crecimiento o reproducción.

MATERIALES Y MÉTODOS

RECOLECCIÓN DE PLANTAS

La recolección del lirio se llevó a cabo a lo largo del lago de Chapala en el estado de Jalisco. Este lago, con una capacidad de aproximadamente 8000 hectómetros cúbicos y una superficie total de 114,659 hectáreas, abastece el 60 % de agua a la zona metropolitana de la ciudad de Guadalajara, capital del estado de Jalisco. La *Eichhornia crassipes* dentro de esta enorme y hermosa extensión de agua dulce, ha sido considerada, desde hace tiempo, como una plaga no controlada y de crecimiento desordenado que aumenta el deterioro del vaso lacustre.

Una vez recolectadas especies con características fenotípicas similares y en buen estado, estas fueron trasladadas y colocadas en recipientes durante un periodo aproximado de 2 semanas, con el fin de observar el comportamiento favorable o desfavorable que estas pudieran presentar al cambiar de su hábitat natural a uno artificial.

CARACTERIZACIÓN Y SELECCIÓN DE FUENTE LUMÍNICA

Como fuente lumínica se seleccionaron lámparas LED, las cuales tienen bajo consumo de energía, mayor tiempo de vida, tamaño reducido, reducida emisión de calor, alto nivel de fiabilidad y duración. Los LED's (por su acrónimo inglés light-emitting diode o diodo emisor de luz) constituyen un tipo especial de semiconductor, cuya característica principal es convertir en luz la corriente eléctrica de bajo voltaje. Dependiendo del material de que está hecho el LED, será la emisión de la longitud de onda y por ende el color.

Las lámparas seleccionadas son capaces de emitir luz en rojo verde y azul como lo muestra la ver figura 4, además cuentan con las siguientes características:

- Conector E27
- Potencia de 3W
- Vida de 150,000 horas
- Control de intensidad
- Emisión de 16 colores diferente



Figura 4: Fuente lumínica LED de Radiación RGB con control de intensidades y selección de 16 colores.

Una vez seleccionada la fuente lumínica se realiza su caracterización con un espectrómetro con el fin de conocer el espectro de emisión de cada color de lámpara, los resultados obtenidos se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 1. Comparación de los parámetros comunes del espectro electromagnético con los obtenidos en las lámparas

COLOR	Ancho espectral de la lámpara LED (nm)	Máxima intensidad lámpara (nm)	Ancho espectral aceptado (nm)
Rojo	560-660	640	630-780
Verde	480-620	530	510-530
Azul	420-560	460	440-480

Donde el ancho espectral de la lámpara hace referencia al valor medido, la máxima intensidad es aquel valor en el cual fue posible detectar el punto más intenso del espectro, por último el ancho espectral aceptado hace referencia al valor estandarizado para cada color.

La figura 5 muestra imágenes tomadas del directamente del espectrómetro, donde es posible observar un ancho espectral mayor al esperado y fuera de los límites para cada color.

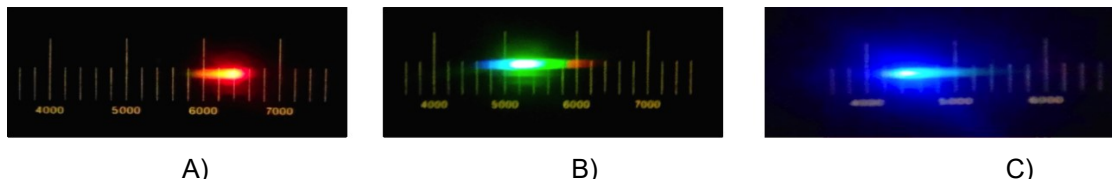


Figura 5: Espectro electromagnético emitido por la lámpara en color A) Rojo, B) Verde y C) Azul.

Para eliminar este fenómeno, y obtener radiaciones precisas dentro de los parámetros aceptados para cada una de las longitudes de onda, se adquirieron filtros en 650nm y 460 de la marca Newport, con las siguientes características.

- **Filtro Rojo:**

Modelo	10BF10-650
Tipo	Filtro Pasa Banda
Diámetro	1 Pulgada
Longitud de onda	650nm ± 2 nm
Trasmitancia	50%

- **Filtro Azul:**

Modelo	10BPF10-460
Tipo	Filtro Pasa Banda
Diámetro	1 Pulgada
Longitud de onda	460nm ± 2 nm
Transmitancia	50%

SELECCIÓN DE PLANTAS MUESTRA

A lo largo del periodo de adaptación, fue posible observar un incremento significativo en la cantidad de especies, esto debido a su alta tasa de reproducción. Para el experimento fue necesario realizar una selección de 8 especímenes con características fenotípicas similares. Entiéndase por características fenotípicas similares a cualquier característica o rasgo observable, como su morfología, con un alto índice de similitud.

Para observar el comportamiento fisiológico de la planta, fue necesario tomar medidas de referencia antes y después de la radiación, esto con el fin de poder comparar y registrar los posibles efectos que la *Eichhornia crassipes* pudiese tener después de ser expuesta a diferentes longitudes de onda de luz. Todas las medidas fueron realizadas con vernier con una incertidumbre de ±1mm. Las características consideradas se pueden observar en la siguiente figura:

1. Largo de la hoja
2. Ancho de la hoja
3. Largo de raíz
4. Largo total (Tallo-borde)
5. Numero de hojas

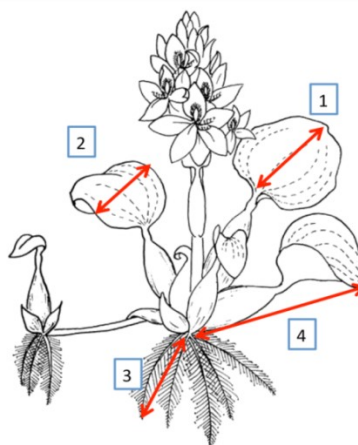


Figura 6: Representación gráfica de cada una las medidas tomadas para la *Eichhornia crassipes*, donde 1 es el largo de la hoja, 2 el ancho de la hoja, 3 el largo de la raíz y 4 el largo total del peciolo al final de la hoja.

DESARROLLO

Una vez caracterizadas las fuentes de iluminación y reconocidas las características a medir para cada planta, se eligieron y asignaron 8 ejemplares como lo muestra la tabla siguiente:

Tabla 2. Representación y asignación de plantas para su irradiación

Planta	Color Lámpara	Iluminación
1	Rojo	C/F
2		S/F
3	Verde	S/F
4	Azul	C/F
5		S/F
6	Control	Blanca
7		Luz Solar
8		Sin luz

Las plantas fueron colocadas en un cuarto oscuro aisladas unas de otra, para permitir que solo una frecuencia irradie a cada planta, con 2.5 lts de agua durante un periodo de 168 horas. Las plantas control fueron colocadas una bajo emisión de luz blanca generada al encender los led’s RGB, la otra fue colocada bajo la luz solar, además fue colocada una planta control más, la cual permanecería sin radiación, en total oscuridad, esto con el fin de conocer el más alto daño generado por eliminar en su totalidad la luz de una planta .

Es importante resaltar que cada una de las medidas tomadas está documentada de manera fotográfica, lo que nos permite conocer el punto exacto de referencia para realizar las medidas. En la tabla 3 se puede observar los datos tomados para cada una de las plantas de estudio que serán irradiadas. La columna 1 y columna 2 hacen referencia a la manera de identificar cada una de las plantas y lámparas, la siguiente columna llamada iluminación nos indica si la irradiación será hecha con o sin filtro.

Tabla 3. Características medidas y analizadas de las plantas antes de ser incididas.

Planta	Color Lámpara	Iluminación	Raíces				Hoja	No. de hoja	Retoños
			Largo (mm)	Largo (mm)	Ancho (mm)	Largo total (tallo-borde)(mm)			
1	Rojo	C/F	61	39	65.6	93	4	3	
2		S/F	81	34	61	78	4	1	
3	Verde	S/F	38	22	49.5	64	6	1	
4	Azul	C/F	62	31	57	65	7	3	
5		S/F	78	31	57	84	6	2	
6	Control	Blanca	110	33.5	62	90	5	1	
7		Luz Solar	48	32	58	90	5	1	
8	N/A	Sin luz	114	31.5	59	74	5	1	

RESULTADOS

Durante las 168 horas del irradiación fue tomada en cada muestra los niveles de temperatura donde se pudo observar niveles de 21° a 25°C para aquellas muestras con filtro y de 25° a 27° para aquellas sin filtro. La mayor variación de temperatura se presento en la planta irradiada con luz solar, debido a la variación del cambio climático por el movimiento de rotación de la tierra. Estas variaciones térmicas influyeron directamente en el consumo de agua debido al el efecto de evaporación, siendo la planta expuesta a la luz solar la de mayor consumo, con un total de 790ml, caso contrario, la planta 8 (sin luz) muestra un menor consumo con tan solo 150 ml.

Al realizar las mediciones después de la irradiación después fuimos capaz de confirmar la importancia de la luz solar en el crecimiento de las plantas pues fue posible apreciar que es la única donde existe el crecimiento de nuevos retoños. La planta irradiada con luz azul con y sin filtro muestran el mayor crecimiento en el tamaño de la hoja, siendo mayor en aquella planta irradiada sin filtro. Caso contrario el menor crecimiento fue observado en aquellas plantas irradiadas con luz roja y luz verde ambas S/F. El crecimiento de hojas se ve favorecido en las plantas irradiadas con luz azul S/F al crecerles 2 hojas nuevas, en cambio para el crecimiento de una hoja pudimos encontrar aquellas plantas irradiadas con la luz azul C/F, blanca y luz solar.

Es importante resaltar que la planta irradiada con luz roja C/F (650nm) mostro un daño comparable con la planta 7 (Sin luz), por lo que en ambos casos no fue posible realizar mediciones, ya que estas se encontraban en estado de descomposición.

La tabla 4 muestra los resultados obtenidos de la comparación de las mediciones realizadas antes y después de las radiaciones, donde cada columna representa las características medidas e indicadas en la figura 6.

Tabla 4. Diferencias entre las mediciones iniciales y finales

Plant a	Color Lámpara	Iluminación	Raíces	Hoja			No de hoja	Retoño	Consumo de AGUA (ml)
			Largo (mm)	Largo (mm)	Ancho (mm)	Largo total (tallo-borde)(mm)			
1	Rojo	C/F	-	-	-	-	-	0	180
2		S/F	0	1	2	5	0	0	170
3	Verde	S/F	0	6	2	5	0	0	170
4	Azul	C/F	2	2	1	8	1	0	180
5		S/F	3	2	1	13	2	0	170
6	Control	Blanca	2	2	0	38	1	0	170
7		Luz Solar	5	3	1	22	1	1	790
8	N/A	Sin luz	-	-	-	-	-	0	150

CONCLUSIONES

La radiación de luz sobre plantas no es una técnica nueva, esta misma que fue diseñada con el fin de poder beneficiar diferentes procesos en el desarrollo, crecimiento o reproducción de las plantas y a su vez desfavorecer otros. En nuestro experimento pudimos constatar la importancia de la radiación del espectro solar completo para el crecimiento de las plantas, esto al observar que la planta bajo los efectos de todo el espectro se ven favorecidas tanto en el crecimiento como en la reproducción. En comparación, pudimos observar que aquellas irradiadas con luz azul mostraron menores beneficios, sin embargo durante nuestro análisis fue posible observar afectaciones en aquellas plantas irradiada con luz roja, mismas que pudieran favorecer a un método de control para infestas de *Eichhornia crassipes*, dichas afectaciones desfavorecieron totalmente a la planta de tal manera que fue imposible realizar un análisis concluyente.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Dra. María del Rayo Ángeles Aparicio Fernández por las facilidades otorgadas al realizar este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

1. K.M. Folta, K.S. Childers, Light as a Growth Regulator: Controlling Plant Biology with Narrow-bandwidth Solid-state Lighting Systems, Hortscience, 43 (2008) 1957-1964.

2. E. Gutierrez, R. Huerto, P. Saldana, F. Arreguin, Strategies for waterhyacinth (*Eichhornia crassipes*) control in Mexico, *Hydrobiologia*, 340 (1996) 181-185.
3. GEIB, TOP 20: Las 20 especies exóticas invasoras más dañinas presentes en España. GEIB. 2, 2006, pp.40-43.
4. Téllez, T. R., López, E. M., Granado, G. L., Pérez, E. A., López, R. M., & Guzmán, J. M. S. (2008). The water hyacinth, *Eichhornia crassipes*: an invasive plant in the Guadiana River Basin (Spain). *Aquatic Invasions*, 3(1), 42-53.
5. K.M. Folta, L.L. Koss, R. McMorrow, H.H. Kim, J.D. Kenitz, R. Wheeler, J.C. Sager, Design and fabrication of adjustable red-green-blue LED light arrays for plant research, *Bmc Plant Biology*, 5 (2005).
6. Lin, C. T. (2002). Blue light receptors and signal transduction. *Plant Cell*, 14, S207-S225. doi:10.1105/tpc.000646.
7. Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S. L., Matsudaira, P., Baltimore, D., & Darnell, J. (2000). Photosynthetic stages and light-absorbing pigments.

DISEÑO Y DESARROLLO DE UN SIMULADOR DE LA REGULACIÓN ERITROCITARIA

Marleni Reyes Monreal, María Eugenia Pérez Bonilla,
Miguel Pérez Escalera, Cheng-li Chilián Herrera y Arturo Reyes Lazalde

Facultad de Artes Plásticas BUAP, Puebla, Pue. México.
Facultad de Ciencias Biológicas BUAP, Puebla, Pue. México.

RESUMEN

El eritrocito es la célula sanguínea que transporta el oxígeno a todos los tejidos del organismo. Se producen en la médula ósea a partir de los hematocitoblastos. Su producción es denominada eritropoyesis. El número de eritrocitos circulantes en un paciente es casi constante y es fundamental que permanezca así. Existe un mecanismo que controla el equilibrio entre los eritrocitos que se forman y los que se destruyen. En este trabajo, se diseñó y desarrolló un simulador para el estudio de la regulación de eritrocitos en sangre. Se utilizó el lenguaje Visual Basic 6.0 para ambiente Windows® para ser ejecutable en Windows® XP a Windows® 10. El simulador cuenta con una interfaz donde se muestra, del lado izquierdo, un recuadro para graficar la concentración de eritrocitos con respecto del tiempo. Del lado derecho, se encuentran cuatro casillas para que el usuario ingrese los datos: la cantidad de eritrocitos circulantes en sangre por día, los eritrocitos producidos en médula por día, la fracción de eritrocitos removidos en el bazo y la constante de producción. Se concluye que con este simulador el usuario puede observar los efectos que tienen un aumento o disminución en la producción eritrocitaria en la médula o aumento en destrucción de los eritrocitos. La constante de producción tiene que ver con la velocidad de producción del eritrocito en médula ósea. Las diferentes condiciones en la simulación pueden mostrar una disminución en los eritrocitos circulantes como sucede en algunas anemias. Una cantidad baja produce hipoxia y una cantidad mayor de lo normal produce un aumento en la viscosidad de la sangre.

INTRODUCCIÓN

Los organismos multicelulares complejos formados por células especializadas requieren para su buen funcionamiento el aporte de oxígeno. Muchos de los procesos celulares son aerobios y el aporte de oxígeno a las células es fundamental. Dado que las células forman tejidos no pueden adquirir el oxígeno directamente del medio ambiente. La evolución dio lugar un aparato especializado: El aparato respiratorio.

El aparato respiratorio básicamente está formado por un corazón y una serie de vasos sanguíneos por donde fluye la sangre. El corazón funciona como una bomba que impulsa la sangre a todo el organismo. Los vasos sanguíneos forman dos circuitos: el circuito mayor que va del ventrículo izquierdo a todos los tejidos y regresa al corazón por la aurícula derecha. El circuito menor va del ventrículo derecho a los pulmones, donde la sangre es oxigenada, y regresa a la aurícula izquierda. El oxígeno pasa del aire respirado a los alveolos y de ahí a la sangre gracias a un gradiente de concentración. Siempre de mayor a menor concentración. Una vez en la sangre, el oxígeno debe ser llevado a todas las células que constituyen el organismo [1].

El oxígeno puede ser transportado por la sangre de dos maneras diferentes: (1) disuelto en la sangre y (2) transportado por los eritrocitos. Cuando va disuelto en la sangre, la cantidad de oxígeno sigue la Ley de Henry, esta depende de la solubilidad del oxígeno en la sangre ((0.023 ml de oxígeno por ml de sangre) y de la presión parcial de oxígeno. Por ejemplo, para una presión parcial de 100 mmHg será de 0.302 ml. El 3% del oxígeno disuelto en la sangre sale de los vasos a los espacios intercelulares y por la filtración. En consecuencia, el transporte de oxígeno disuelto en la sangre es poco eficiente para los requerimientos de las células. En cambio, el oxígeno transportado en los eritrocitos es muy eficiente [1].

La cantidad de hemoglobina en un eritrocito (HCM) normalmente está entre 27 a 31 picogramos/célula. Y la cantidad relativa al tamaño del eritrocito (CHCM) está entre 32 a 36 gramos/decilitro o 320 a 360 gramos por litro. El tamaño promedio de los eritrocitos (VCM) es de 80 a 100 fentolitros. Estos índices permiten el diagnóstico de diferentes tipos de anemia. Un valor bajo de VCM puede indicar una anemia microcítica producto de niveles bajos de hierro o una intoxicación con plomo. El caso de una anemia con un valor normal de VCM indica una anemia producto de un sangrado repentino, enfermedades prolongadas como una insuficiencia renal o una prótesis de válvula cardíaca que está destruyendo los eritrocitos. En una anemia con valores VCM aumentados indican una anemia macrocítica producto de una deficiencia de ácido fólico, vitamina B12, o quimioterapia [2, 3].

Un nivel bajo de HCM indica una anemia hipocrómica, debido frecuentemente a bajos niveles de hierro. Un nivel normal de HCM indica una anemia normocrómica, debido a pérdida repentina de sangre y un valor alto de HCM indica una anemia hiperocrómica, debido a niveles bajos de ácido fólico o vitamina B12 [2].

Los eritrocitos además de la función de transportar oxígeno en la hemoglobina, tienen la función de catalizar la reacción entre el dióxido de carbono y el agua. Esta reacción química es aumentada varios cientos de veces gracias a la presencia, en grandes cantidades, de la enzima anhidrasa carbónica dentro del eritrocito. La rapidez de esta reacción hace que el H_2O reaccione con grandes cantidades de dióxido de carbono y produzca grandes cantidades de ión bicarbonato (HCO_3^-) y sea transportado de los tejidos a los pulmones. La hemoglobina es un excelente amortiguado ácido-base. Los eritrocitos son responsables, de la mayor parte, de la amortiguación ácido-base en la sangre.

La cantidad de eritrocitos, su tamaño y su forma son fundamentales para su función. El eritrocito es una célula con una forma bicóncava con un diámetro medio de 7.8 micras y un espesor en la parte más ancha de 2.5 micrómetros y en el centro con un espesor de 1 micrómetro o menos. El volumen promedio es de 90 a 95 micrómetro cúbicos. Gracias a la cantidad de membrana que tienen los eritrocitos pueden cambiar su forma cuando pasan por los capilares. El paso se hace muy lento y favorece la entrega de oxígeno a las células en los tejidos.

La cantidad de hemoglobina que contienen es de 34 g/dL y constituye un límite metabólico de formación de hemoglobina en esta célula. Este valor puede bajar cuando la formación de la hemoglobina en la médula ósea es deficiente y en ese caso también puede bajar el volumen de los eritrocitos debido a la menor cantidad de hemoglobina que tienen.

La cantidad de eritrocitos en la sangre se mantiene prácticamente constante en condiciones normales. Para que esto suceda debe generarse un equilibrio entre la producción de los eritrocitos y su destrucción. El sitio de producción de estas células depende de la edad. En las primeras semanas de vida intrauterina se producen en el saco vitelino. En el segundo trimestre de gestación, el hígado es el principal productor, algunos se forman en los ganglios linfáticos y en el bazo, al final de la gestación y al nacer ya se producen en la médula ósea.

Los eritrocitos, los granulocitos y los monocitos provienen de células madre pluripotenciales. La proliferación de cada una de estas células está controlada por factores inductores de proliferación. Como por ejemplo, la interleucina-3.

Para el caso de los eritrocitos la primera célula que se forma es el proeritroblasto. La división de estas células produce los eritroblastos basófilos. Se llena de hemoglobina en un 34%. Los organelos intracelulares van desapareciendo, se observan restos de mitocondria, y aparato de Golgi. En esta etapa se le llama reticulocito. En seguida, migran de la médula ósea al torrente sanguíneo. En 1 a 2 días el reticulocito se convierte en un eritrocito maduro (sin organelos intracelulares) [3].

Es importante la regulación de la cantidad de eritrocitos en la sangre. Condiciones como una hemorragia intensa, enfermedades pulmonares o cardíacas (por ejemplo, insuficiencia cardíaca), e incluso una altitud grande sobre el nivel del mar estimulan la producción de los eritrocitos. Principalmente el riñón es el órgano sensor que permite la estimulación de una hormona, la eritropoyetina, que estimula la producción de eritrocitos. La eritropoyetina se produce de minutos a horas. Sin embargo, existe un retardo en esta señal de retroalimentación positiva dado que la presencia de eritrocitos se aprecia cinco días después. El mecanismo de control de la eritropoyetina para la producción de eritrocitos es muy importante: en ausencia de eritropoyetina se forman pocos eritrocitos en la médula ósea. Grandes cantidades de eritropoyetina, hierro y nutrientes necesarios pueden aumentar la producción de eritropoyetina hasta más de 10 veces lo normal [4].

La disminución de los eritrocitos se traduce en una anemia. Las causas de anemia pueden agruparse en tres: (1) disminución en la producción de eritrocitos, (2) destrucción acelerada (hiperhemólisis) y (3) pérdida por hemorragia.

Con respecto a la producción de eritrocitos se presenta en una deficiencia de elementos esenciales para la eritropoyesis, lesiones en el sistema hematopoyético (aplasia, hipoplasia, leucemia, linfomas, mielomas) y disminución de la eritropoyesis por patologías sistémicas (uremia, hipotiroidismo, hipoadrenalismo).

La hemólisis se puede producir por un defecto congénito del eritrocito o por la destrucción prematura por factores externos. Por otro lado, todas las alteraciones que producen hemorragia severa llevan a una anemia.

Existen variables fisiológicas que están cambiando de manera oscilatoria. Se describen una serie de enfermedades llamadas periódicas, por ejemplo: algunas enfermedades respiratorias, desordenes neurológicos, patologías cardíacas, y varios desordenes hematológicos [5]. En este sentido, la eritropoyesis ha sido modelada matemáticamente. Bélair et al. (1995) propusieron un modelo matemático de retardo para la eritropoyesis. Con este modelo los autores estudiaron el proceso en condiciones normales y después hicieron un análisis de bifurcación. Los parámetros fisiológicos fueron recabados de la literatura clínica [6]. Colijn y MacKey (2005) han

modelado la regulación de la hematopoyesis originada de las células madre hematopoyéticas hasta la producción de plaquetas, leucocitos y eritrocitos [4].

MATERIAL Y MÉTODO

Se diseñó y desarrolló un simulador del control del número de glóbulos rojos en sangre. Se utilizó el lenguaje de programación Visual Basic 6.0 y se compiló para obtener un archivo ejecutable en ambiente Windows® desde XP a Windows® 10. El simulador está basado en un sistema de ecuaciones diferenciales de retardo [7]. El modelo relaciona las etapas de maduración, desde las células pluripotenciales hasta los eritrocitos maduros (ecuación 1). Este proceso se inicia con un grupo de células precursoras de los eritrocitos que depende de la cantidad de la hormona eritropoyetina (ecuación 2).

$$\frac{dM(t)}{dt} = e^{\beta\mu_1} [S_0(E(t - T_1)) - e^{-\gamma T_2} S_0(E(t - T_1 - T_2))] - \gamma M(t) \quad (1)$$

$$\frac{dE(t)}{dt} = f(M(t)) - kE(t) \quad (2)$$

Donde:

M(t) es la población total de células maduras

E(t) es el nivel de hormona (eritropoyetina, principalmente) Con una vida media de 6 hrs.

□ es el nivel de hemoglobina contenida (relacionada con el proceso de maduración)

S₀ número de células reclutadas en la población precursora y que dependen de la eritropoyetina

γ es la velocidad de muerte de los eritrocitos. Depende de la edad, viven 120 días.

k es la constante de velocidad de decaimiento de la hormona

f(M) es una función monótonamente decreciente y constituye una retroalimentación negativa

β es la tasa de reproducción. Tasa de proliferación de células precursoras.

Cuando existe un balance entre los parámetros de las ecuaciones 1 y 2 se obtiene un número de eritrocitos constante.

Las ecuaciones fueron resueltas con el método numérico de Euler.

RESULTADOS

Se diseñó un simulador de la cantidad de eritrocitos en sangre. Para este propósito se utilizó un modelo matemático que requiere de la cantidad de eritrocitos circulando en sangre por día, la cantidad de eritrocitos producidos en médula por día, la fracción de eritrocitos removidos por día y la constante de producción (proliferación de células precursoras). La figura 1, muestra la interfaz de usuario. Del lado derecho, se encuentran cuatro casillas para ingresar cada uno de los parámetros. El número de eritrocitos en sangre y producidos corresponde a una cantidad de 1X10⁶ eritrocitos o células en maduración/microL. La fracción de eritrocitos removidos en bazo es menor a 1. La constante de producción sugerida es de 1 (puede ir de 0.8 a 1.1). Del lado izquierdo, se muestra un recuadro para el graficado de eritrocitos circulando en sangre y de producidos (proceso de eritropoyesis).



Fig. 1. Interfaz del simulador.

La figura 2, corresponde a una simulación en un paciente adulto normal. Los valores de los parámetros son 6×10^6 eritrocitos/microl, 2×10^6 proliferación de células/microl, una velocidad de muerte de eritrocitos en bazo de 0.1, y una constante de producción de 1. En estas condiciones la cantidad de eritrocitos en sangre permanece constante.

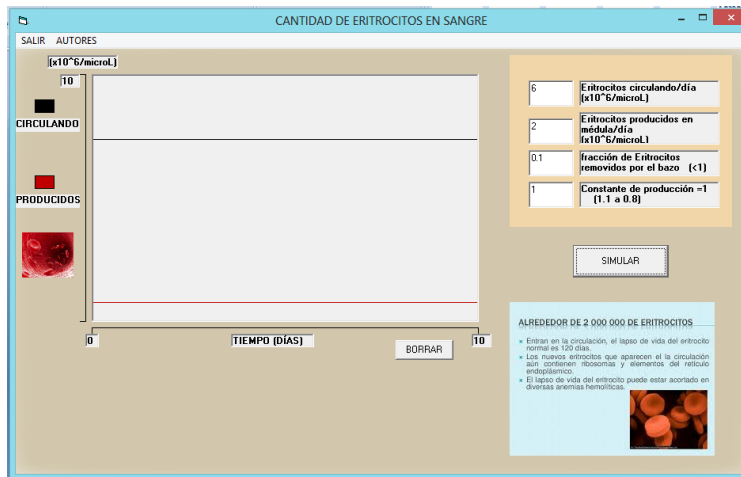


Fig. 2. Simulación con condiciones normales. Se observa cómo la cantidad de eritrocitos en sangre permanece constante en el tiempo.

La figura 3, muestra cómo un proceso de incremento en la destrucción de los eritrocitos por el bazo, disminuye la cantidad circulante de eritrocitos en sangre. Los parámetros de proliferación (maduración en la eritropoyesis) fueron conservados.

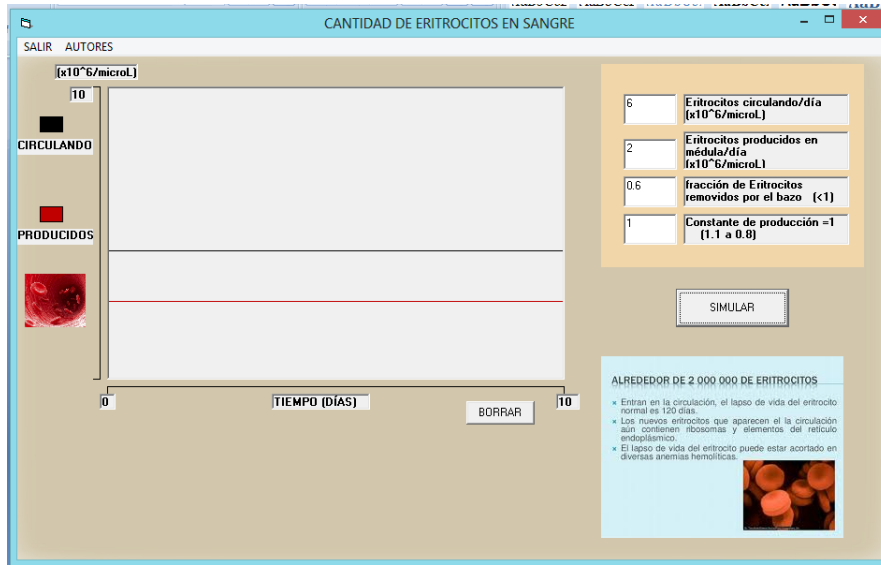


Fig. 3. Simulación donde se ha incrementado la fracción de renovación de los eritrocitos de 0.1 a 0.6. Se observa cómo disminuye la cantidad de eritrocitos en sangre.

La figura 4, muestra una simulación con incremento en el parámetro de producción (proliferación en la eritropoyesis). Se observa un incremento en los primeros cinco días.

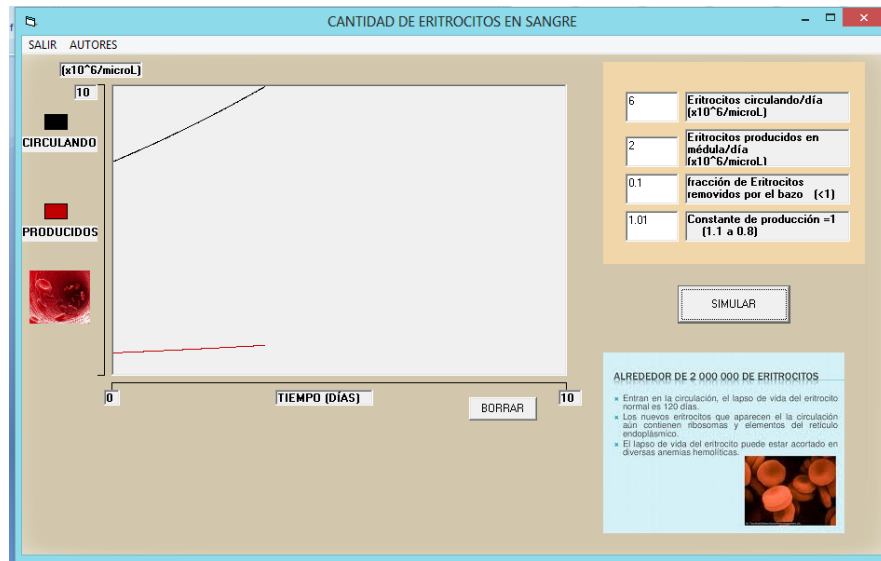


Figura 4. Simulación donde los parámetros son iguales a los normales excepto la constante de producción de eritrocitos. En este caso se paso de 1 a 1.01. Se observa un incremento muy grande de la cantidad de eritrocitos en sangre.

CONCLUSIONES

1. Con el simulador el usuario puede realizar simulaciones con diferentes condiciones.
2. Observar cómo el número de eritrocitos en condiciones normales permanece constante.
3. Se puede observar el efecto de cambiar el valor de cualquiera de las variables.

4. Se pueden simular algunas condiciones patológicas

BIBLIOGRAFÍA

1. J. B. West, "Fisiología respiratoria", Williams & Wilkins, 2012.
2. B. Rodak & J. H. Carr. "Atlas de hematología clínica", Panamericana, 2015.
3. M.M. Williams, *Hematology*, 4th ed., McGraw-Hill, New York, 1990.
4. C. Colijn and M. C. Mackey. "A mathematical model of hematopoiesis I. Periodic chronic myelogenous leukemia". *Journal of Theoretical Biology*. 237, 2, 2005, pp. 117-132.
5. M.C. Mackey and J. G. Milton, Dynamical diseases, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 504, 1986, pp. 16-32.
6. H. Maeda, Y. Hitomi, R. Hirata, H. Tohyama, J. Suwata, S. Kamata, Y. Fujino, and N. Murata, The effect of phlebotomy on serum erythropoietin levels in normal healthy subjects, *Int. J. Hematol.* 55, 1992, pp.111-115.
7. M.C. Mackey and J. G. Milton, Feedback, delays and the origin of blood cell dynamics, *Comments Theor. Biol.* 1, 1990, pp. 299-327.

SÍNTESIS DE CERÁMICAS DE COBRE, BISMUTO Y METALES ALCALINO-TÉRREOS, POR SOL-GEL VIA INORGÁNICA, SU CARACTERIZACIÓN Y SUS APLICACIONES

José Genaro Carmona Gutiérrez, Lizette Fernández Rodríguez, Minuet Barragán Olan, José Albino Moreno Rodríguez, Alfonso Daniel Díaz Fonseca, Kevin Galindo Herrera.

Facultad de Ciencias Químicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

RESUMEN

Las cerámicas son materiales inorgánicos formados por elementos metálicos y no metálicos, unidos entre sí principalmente mediante enlaces iónicos y/o covalentes, con propiedades mecánicas, térmicas, ópticas, eléctricas, magnéticas, etc. que las convierten en materias primas para las diferentes aplicaciones tecnológicas, se clasifican en cristalinas y vidrios, las cristalinas o mejor conocidas como cerámicas, por su composición química se clasifican en cerámicas de silicato, cerámicas de óxido sin silicato y cerámicas sin óxido. En el presente trabajo, se han sintetizado óxidos de diferentes metales, bismuto, cobre y metales alcalino-térreos, la síntesis que efectuamos fueron por el método sol gel, un método de preparación de diversos tipos de materiales como cerámicas, semiconductores, vidrios, etc. Por medio de este proceso se trabaja a temperatura ambiente, a temperaturas bajas, óxidos inorgánicos homogéneos con propiedades deseables de resistencia, transparencia óptica, durabilidad química, porosidad y resistencia térmica. Muchas aplicaciones de estos materiales incluyen capas protectoras y porosas, capas ópticas, capas dieléctricas y electrónicas, superconductores, semiconductores, refuerzo de fibras, biomateriales y catalizadores, se pueden obtener materiales que por otro método de fabricación es difícil, además, se puede introducir impurezas de iones de diferentes elementos. Nuestro proceso involucra la formación de un sol seguida por la de un gel, con la presencia de una molécula que sirve como quelante y de un solvente adecuado, los objetivos de la presente investigación son sintetizar óxidos de diferentes metales como los mencionados y otros más. La superconductividad es un estado físico de la materia y motivo de una amplia investigación en muchos centros, en los últimos años ha inspirado a diferentes proyectos de investigación en universidades y centros de investigación, etc. Estudien y contribuyan a nuevas síntesis de superconductores con temperaturas críticas altas para que así, puedan tener alguna aplicación tecnológica y sea beneficiada la sociedad en general. Los superconductores hoy en día juegan un papel con posibles aplicaciones que comprometen a seguir estudiando y contribuyendo a este tipo de materiales. Una de las posibles aplicaciones que se le atribuye a este fenómeno es: magnetos (imanes), dispositivos de microondas pasivos, interconexiones microeléctricas, transporte de energía (electricidad) en un polímero, detectores y mezcladores de microondas, computadoras, plasma, en la medicina, en la química como efecto catálisis, etc.

INTRODUCCIÓN

Las cerámicas se han usado a lo largo de los años porque exhiben buena resistencia bajo compresión, no obstante, virtualmente no exhiben ductilidad bajo presión. Las cerámicas son sólidos, formados principalmente por un metal y un no metal, y la unión entre los átomos se da mediante enlaces iónicos o covalentes. Este tipo de materiales se puede agrupar en tres familias importantes; las cerámicas inorgánicas policristalinas y monocristalinas, vidrios amorfos y vidrios cerámicos dentro de estas tres familias, las podemos clasificar con base a su composición química y su función, por ejemplo: óxidos, sulfuros, nitruros, fluoruros, cloruros, carburos, etc. Las aplicaciones tecnológicas de las cerámicas son diversas, ya que resguarda una gran diversidad de impacto como en la industria doméstica, química, biomédicas, mecánicas/estructurales y eléctricas y en las eléctricas encontramos un campo de estudio de interés el cual es: los superconductores. En el año de 1911 en la universidad de Leiden, Heike Kamerlingh Onnes descubrió la superconductividad y la consideró un nuevo estado físico, o sea, estado superconductor de la materia. El efecto de la superconductividad es un nuevo estado donde la oposición o disipación del flujo de electrones es nula. Este importante descubrimiento es producto de que en 1908 Onnes licuara el helio a una temperatura de 4K, destacando que era uno de los últimos gases nobles en licuar. Esta propiedad del helio y su uso como material criogénico, permitió estudiar las propiedades de los metales y a aleaciones a bajas temperaturas. Alguno de sus estudios significantes de Onnes era medir la resistencia eléctrica principalmente en metales y aleaciones de éstos a temperaturas muy bajas contribuyendo que la resistencia eléctrica de los metales y/o aleaciones va disminuyendo respecto a la temperatura, pero continuamente encontraba una resistencia eléctrica residual, sin embargo, cuando media la resistencia eléctrica

del mercurio, observó que la resistencia caía repentinamente a 0, a la temperatura de 4K, Onnes le denominó temperatura crítica. En 1913, Onnes atribuyó que un material superconductor tiende a perder a esta propiedad cuando son sometidos a un campo magnético muy fuerte, por tanto, podemos correlacionar que un campo magnético está en función de la temperatura, agregando que la temperatura crítica corresponde a un campo magnético igual a cero. Los superconductores tienen características directamente relacionadas con las líneas de un campo magnético, contribución que, en 1933, Meissner y Ochsenfeld hicieron otro importante descubrimiento: En un material superconductor evita que las líneas de fuerza de un campo magnético se encuadren en su volumen dando como consecuencia un rechazo, actualmente conocido como “efecto Meissner” experimentalmente se aprecia como una levitación. Este tipo de características indican que un material superconductor tiene diamagnetismo perfecto. Hoy en día existen diferentes tipos de materiales superconductores, por ejemplo: aleaciones, elementos, compuestos binarios, compuestos ternarios, superconductores orgánicos, etc. Algunos superconductores en estado elemental son el: Ytrio, plomo, estaño, indio, etc. En los últimos años, se han estado investigando nuevos materiales que alcancen una temperatura crítica alta y de ser posible, a temperatura ambiente para así, tengan una aplicación aún más directa en la industria tecnológica, de la salud, del ambiente, de la biología, entre otras.

TEORÍA

Las cerámicas cristalinas deben cumplir con dos características muy importantes en cuanto a sus iones, tanto los cationes como los aniones, la suma de las cargas eléctricas siempre debe ser cero, es decir deben cumplir con la neutralidad y la otra es el tamaño relativo de estos iones, el tamaño de los radios iónicos está relacionado con que los elementos químicos proporcionan electrones al ser ionizados y por lo tanto los cationes son generalmente menores que los aniones, la relación entre el radio del catión y el radio del anión siempre será menor que la unidad, cada catión se rodeará de tantos aniones vecinos más próximos como le sea posible y los aniones también se rodearán del máximo número de cationes posibles como vecinos más próximos, las estructuras cristalinas se vuelven más estables mientras mayor sea el número de aniones que rodean al catión central. Por otra parte conviene considerar los huecos que se construyen en el empaquetamiento de los iones, cuatro esferas forman un tetraedro regular y el intersticio entre estas cuatro esferas es llamado *hueco tetraédrico*, por otra parte si consideramos la superposición de dos capas hexagonales y examinamos cuidadosamente se muestra que hay también huecos octaédricos entre las capas, no es fácil visualizar las dos posibilidades y el problema es mejor trabajarlo por medio de modelos, las dos posibilidades desde la posición de la tercera capa conducen a la estructura conocida como empaque cerrado hexagonal y por otra parte a la de empaque cúbico cerrado, en ambas estructuras hay huecos octaédricos y tetraédricos. Para el propósito del trabajo sobre cerámicas conviene hacer referencia a dos clases de estructura que son derivadas del empaquetamiento cúbico: a).- Estructura perovskita^[4], donde uno en cuatro de los aniones puede ser considerado para ser desplazado por un catión de la misma carga numérica, dentro de los huecos octaédricos van los cationes de diferente carga, la fórmula general es $M^+M^{2+}X_3$, ejemplos específicos son con carga 1+ y una red de anión monovalente, $KMgF_3$ y con una red de anión divalente, $CaTiO_3$, en cada caso el ion metálico de valencia más alta es rodeado por un octaedro de aniones, en la serie de perovskita $KMgF_3$ el Mg puede ser desplazado por un número de iones de la primera serie de elementos de transición, y el flúor puede algunas veces ser desplazado por aniones cloruro o bromuro, en la serie de $CaTiO_3$ el Ca puede ser desplazado por casi cualquier catión divalente y el Ti por casi cualquier catión tetravalente, sobre los aniones fluoruro y óxido, aproximadamente cercanos en su comportamiento a esferas no polarizables, otros aniones como cloruro y sulfuro también pueden dar origen a redes en que el empaque de los aniones es importante, pero ellos muestran algún grado de polarización, las redes son más fácilmente deformadas que las redes de fluoruro y óxido. b).- Estructura Espinela donde la red de aniones es más usualmente compuesta de iones O^{2-} y hay cationes trivalentes y divalentes, ambos huecos octaedros y tetraedros son ocupados, la fórmula general de una espinela es $M^{2+}M_2^{3+}O_4$, aunque otras combinaciones son posibles, el mineral espinela por sí mismo es $MgAl_2O_4$, la manera en la cual los cationes son distribuidos entre los huecos tetraedro y octaedro do origen a dos clases diferentes de espinelas, la así llamada “Normal” y la espinela “Invertida”; La espinela normal tiene los cationes divalentes en los huecos tetraédricos y los cationes trivalentes se encuentran en los huecos octaédricos; las espinelas invertidas tienen los cationes divalentes también como la mitad de los cationes trivalentes en los huecos octaédricos, el resto de los cationes trivalentes está en huecos tetraédricos; Los huecos tetraédricos en la red espinela son comúnmente referidos como los sitios A y los huecos octaédricos como los sitios B, en esta nomenclatura una espinela normal es $A^{2+}B_2^{3+}O_4$, mientras que una espinela invertida es $A^{3+}B^{2+}B^{3+}O_4$. Por otra parte y con el propósito de referirse a uno de los objetivos de la presente investigación sobre la posible aplicación de estas cerámicas puesto que así lo

refleja la literatura nos referiremos a la teoría sobre la superconductividad, se han ido desarrollado teorías muy importantes como: La teoría de London, teoría de Ginzburg-Landau y la de teoría de Bardeen, Cooper y Schrieffer, la teoría BCS, de estas tres teorías, la teoría BCS ha sido el único que ha explicado de una manera más completa los fenómenos de la superconductividad, en 1957 Abrikosov diferenció a los superconductores en tipo I y tipo II, argumentando en el que los superconductores tipo I son aquellos que tienen una temperatura crítica baja, es decir, no mayor a 25K y los superconductores tipo II, son aquellos que relativamente tienen una temperatura crítica alta, no obstante, la teoría BCS tiene limitaciones, por ejemplo: esta teoría no puede ser aplicada a superconductores con una temperatura crítica elevada es decir, a superconductores tipo II.

PARTE EXPERIMENTAL

La metodología experimental consiste en una síntesis por método sol-gel vía inorgánica, la síntesis viene dado por una relación molar de (1:1:1) donde utilizamos nitrato de bismuto penta-hidratado $Bi(NO_3)_3 \times 5H_2O$, nitrato de cobre tri-hidratado $Cu(NO_3)_2 \times 3H_2O$, los correspondientes complementos, siendo la serie de los alcalinos térreos en forma de nitratos, por ejemplo: nitrato de estroncio $Sr(NO_3)_2$, nitrato de calcio $Ca(NO_3)_2$, etc., ácido cítrico como quelante y etilenglicol como solvente, el proceso principia disolviendo nitrato de bismuto penta-hidratado en etilenglicol, dando una solución homogénea en seguida se le agrega los demás nitratos, ya con los tres nitratos en etilenglicol, la solución torna un color azul intenso, translucido y homogéneo. Teniendo esta fase, se agrega ácido cítrico en exceso para captar los iones metálicos y así, forme un complejo, posteriormente debemos de evaporarla lentamente a una temperatura de 50°C constante con la finalidad de evaporar el solvente en exceso para que así, pueda gelificar. Después de un periodo de evaporación en un horno de secado, procedemos a raspar el gel; un gel color azul, teniendo el gel como producto, procedemos a darle una serie de tratamientos térmicos con el objetivo de esperar una fase cristalina; las temperaturas a las que fue sometido los materiales fueron las siguientes: 150°C, 500°C, 650°C y 800°C cada una por un periodo de 2 horas a partir de la temperatura deseada en un horno marca Thermolyne modelo "Fornace 1400", finalizado el tratamiento térmico para cada una de las especies químicas, se procedió a pulverizarla en un mortero, estas especies químicas están siendo caracterizadas por análisis termogravimétrico (TGA), análisis diferencial térmico (DTA), difractograma de rayos X (DRX), espectroscopia de infrarrojo (IR), Uv-vis, Microscopía electrónica de barrido y energía dispersiva y algunas técnicas que nos permitan ver cuáles pueden ser sus aplicaciones en algún campo de la tecnología, es de interés para demostrar que tiene propiedades superconductoras el que se pueda conocer su resistividad y susceptibilidad magnética. Algunas imágenes como las que se encuentran en la figura 1, nos muestran el procedimiento experimental.

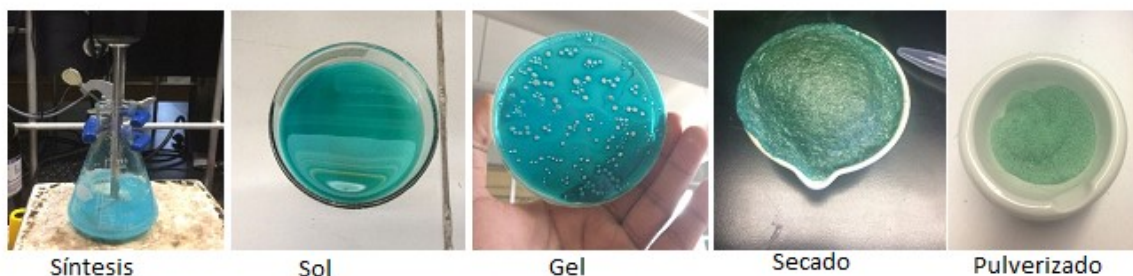


Figura 1. – Proceso sol-gel vía inorgánica.

RESULTADOS

Como resultado de todo el proceso de síntesis, obtuvimos de primera estancia sol producto de disolver todos nuestros solutos en nuestro solvente y agregando el acomplejante, obtuvimos un gel y a una temperatura de 50°C para evaporar el solvente en exceso y así pudiese gelificar. Finalmente, teniendo el gel como producto, se dio su tratamiento térmico a 200, 500, 650 y 800°C. A las muestras tratadas térmicamente se determinó su difractograma correspondiente, que nos muestra un material cristalino, aunque a 200°C es un material amorfo, como se puede apreciar en la figura 2.

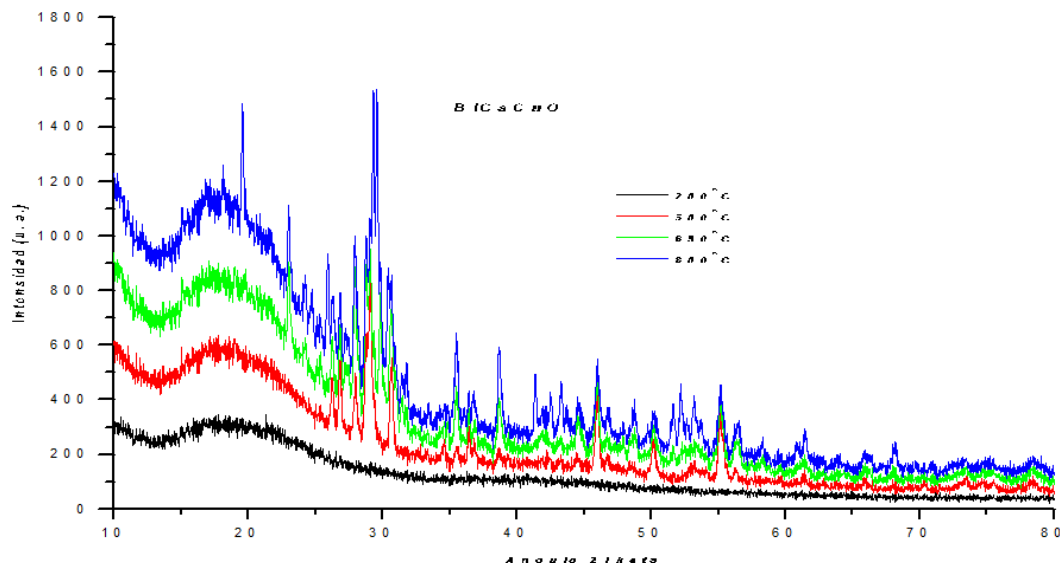


Figura 2. -Difractograma de BiCaCuO

Las muestras sintetizadas y tratadas térmicamente a 500°C se les determinó su difractograma que se observa en la figura 3, se puede observar que es un material cristalino, aunque corresponde a un conjunto de diferentes fases cristalinas como las siguientes: Óxido de bismuto y calcio, $Ca_{0.528}Bi_{2.472}O_{4.236}$, de red cristalina monoclinico y grupo espacial C2/m (12); mineral kuzachite u óxido de cobre y bismuto, $CuBi_2O_4$, de red cristalina tetragonal y grupo espacial P4/ncc (130); óxido de cobre (I) o cuprita, Cu_2O , de red cristalina cúbico y grupo espacial Pn-3m (224); óxido de cobre (II) o tenorite, CuO , de red cristalina monoclinico y grupo espacial C2/c (15); óxido de bismuto o Bismite, Bi_2O_3 , estos datos son parte de la base según Unit Cell Data Source: Power Diffraction.

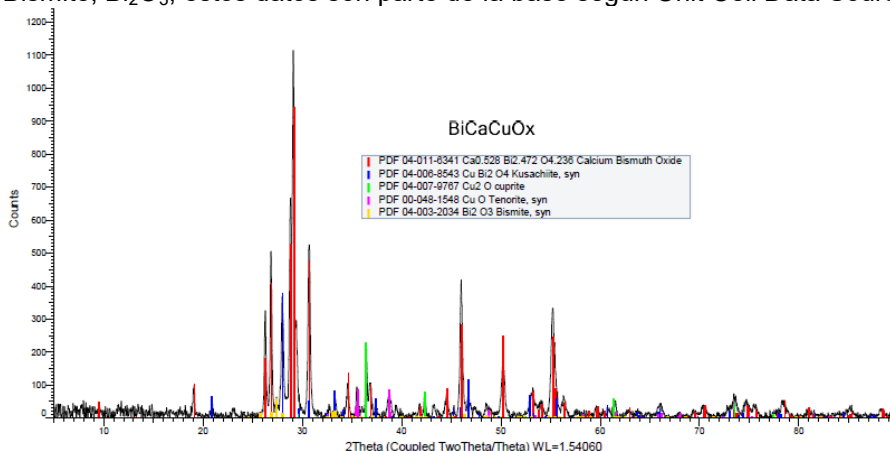


Figura 3. – Difractograma correspondiente a BiCaCuO

Los datos encontrados en el difractograma para la cerámica que fue sintetizada a partir de nitratos de bismuto, estroncio, cobre, corresponden a la figura 4, encontramos que este material tratado a 500°C durante una hora, está compuestos por diferentes fases cristalinas: La Kusachite, $CuBi_2O_4$, de red cristalina tetragonal corresponde al grupo espacial P4/ncc; el óxido de cobre estroncio y bismuto, $Bi_{2.3}Sr_{1.7}CuO_{6.23}$ de red cristalina monoclinico y grupo espacial A2/a (15); óxido de estroncio, SrO_2 , de red cristalina tetragonal y grupo espacial 14/mmm (139); óxido de bismuto o comúnmente β óxido de bismuto, βBi_2O_3 , es tetragonal y corresponde al grupo espacial P-421c (114); mineral bismite o óxido de bismuto, Bi_2O_3 , monoclinico del grupo espacial P21/c (14); óxido de cobre estroncio y bismuto, $Bi_2Sr_2CuO_x$, de red cristalina ortorrómbico del grupo espacial A(o), comentario general, según los datos de Unit Cell Data Source: Powder Diffraction, esta fase cristalina corresponde al sistema de cerámicas reportadas dentro de la superconductividad; estrotianite o carbonato de estroncio, $SrCO_3$, de red cristalina ortorrómbico y grupo espacial Pmnc (62).

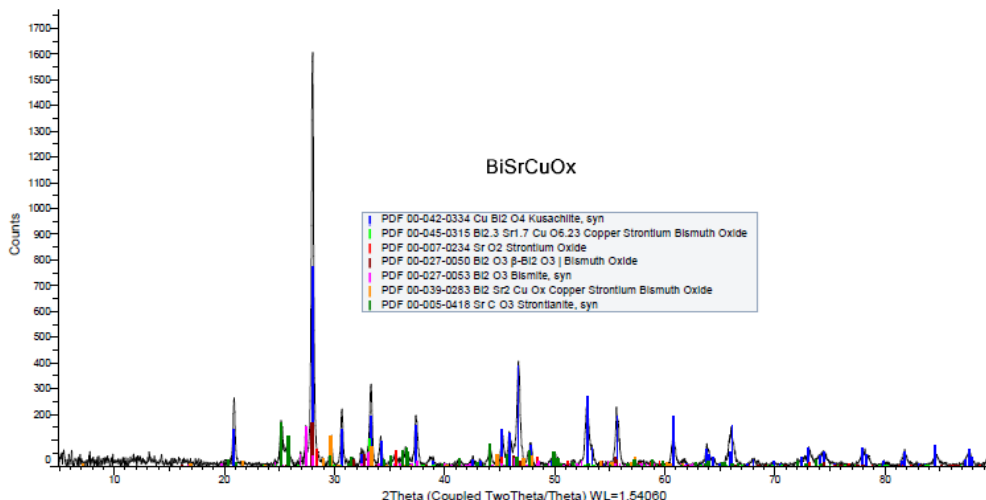


Figura 4. – Difractograma correspondiente a BiSrCuO

En la figura 5 tenemos el difractograma correspondiente al material constituido por bismuto, magnesio, cobre y oxígeno, sin embargo solo se encuentran reportadas tres fases cristalinas, según Unit Cell Data Source: Powder Diffraction y corresponden a los elementos bismuto, cobre y oxígeno, pero no aparece el magnesio, las fases cristalinas reportadas son las siguientes: óxido de bismuto o mineral bismite, Bi_2O_3 , de red cristalina monoclinico y grupo espacial P21/c (14); mineral kusachite, CuBi_2O_4 , de red cristalina tetragonal y grupo espacial P4/ncc (130); mineral tenorite u óxido de cobre (II), CuO , de red cristalina monoclinico y grupo espacial C2/c (15).

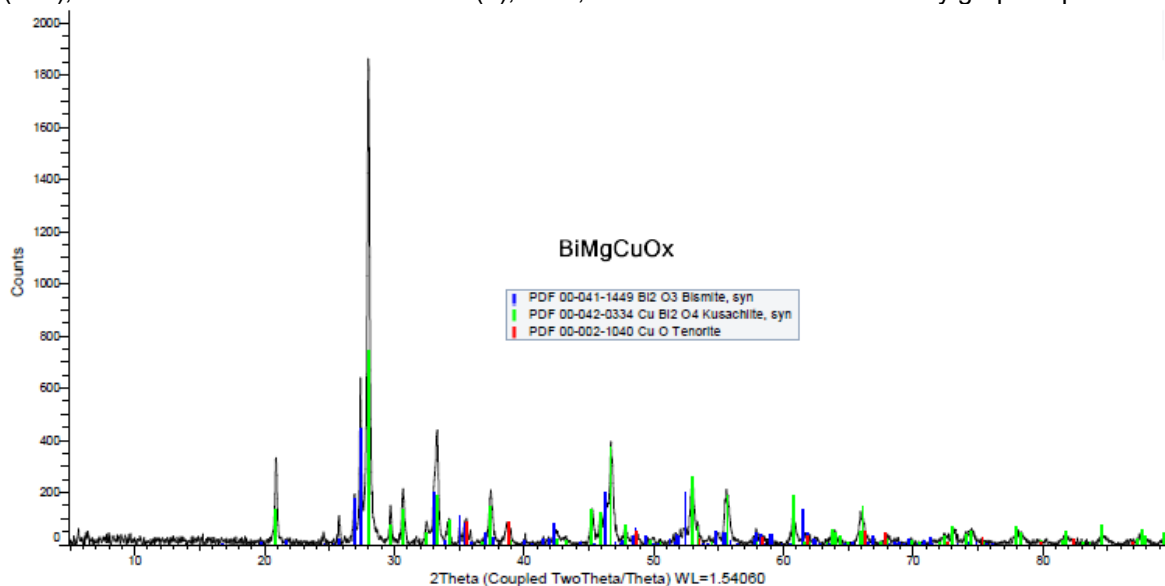


Figura 5. – Difractograma correspondiente a BiMgCuO

CONCLUSIONES

1. El método sol gel vía inorgánica es adecuado y económico para sintetizar cerámicas a temperatura ambiente, basta con garantizar que no se precipite alguno de los elementos que constituyen el material que se requiere.
2. Los materiales sintetizados a temperatura ambiente, son amorfos, pero su difractograma nos muestra la tendencia a cristalizar.
3. Los estudios de difracción de rayos X nos permiten concluir que tenemos diferentes fases cristalinas.

4. El óxido de cobre, estroncio y bismuto, $\text{Bi}_{2.3}\text{Sr}_{1.7}\text{CuO}_{6.23}$ de red cristalina monoclinica, es una estructura espinela normal, los iones divalentes de cobre y estroncio se distribuyen en los huecos tetraédricos y los iones bismuto trivalente ocupa los huecos octaédricos.
5. El óxido de cobre estroncio y bismuto, $\text{Bi}_2\text{Sr}_2\text{CuO}_x$, de red cristalina ortorrómbico, es una espinela, esta fase cristalina corresponde al sistema de cerámicas reportadas dentro de las cerámicas superconductoras.

BIBLIOGRAFÍA

1. B. Arthur, "Superconductors" Journal of Chemical Education. Vol. 64, 1987, pp. 836-841
2. Kumar, A, "High-Temperature Superconductors", Springer Series in Materials Science. 2nd Edition. 2010, pp.2-4.
3. R., Donald, O. Pradeep, "Fundamentos de ingeniería y ciencia de materiales", Cengage Learning, segunda edición. 2010, pp. 468,469, 471.
4. B. N. Figgis, Introduction to Ligand Fields, Interscience Publishers, 1966, USA.

CARACTERIZACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL FRUTO DE *MORUS NIGRA* L.

Haiku Daniel de Jesús Gómez-Velázquez, Xochitl Aparicio Fernández, Rosalía Reynoso Camacho

Universidad de Guadalajara. Centro Universitario de los Lagos.

Universidad Autónoma de Querétaro. Facultad de Química.

RESUMEN

Los frutos son una rica fuente de fitoquímicos, principalmente polifenoles y carotenoides. En México se producen diversas especies de frutos tipo baya como zarzamora, la frambuesa, el arándano y la mora negra (*Morus nigra* L.), los cuales contienen una considerable proporción de compuestos polifenólicos (CP), principalmente del tipo antocianinas. La mora negra, es una fruta rica en antocianinas, en comparación con otros tipos de bayas, esta no es de importancia económica y, dado que sólo se consume localmente en su mayoría se desaprovecha. En años recientes el estudio de las propiedades antioxidantes de las antocianinas ha sido de gran interés científico, para la prevención y/o tratamiento de diferentes tipos de enfermedades. El objetivo de la presente investigación fue caracterizar los CP presentes en un extracto etanólico de mora negra y determinar su capacidad antioxidante. Se realizó una extracción de CP con etanol acidificado, seguido de un enriquecimiento por cromatografía en columna. Asimismo, un perfil polifenólico mediante HPLC-DAD-MS (antocianinas, polifenoles totales, flavonoides), capacidad antioxidante y propiedades fisicoquímicas del extracto. Entre los CP identificados se encuentran: pelargonidina-3-rutinósido, delfinidina-3-rutinósido, ácidos hidroxicinámicos, quercetina-3-O-rutinósido y kaempferol-3,7-O-diglucósido. Los resultados expresan la presencia de antocianinas y polifenoles, aunado a ello, una importante actividad antioxidante. En conclusión, el extracto del fruto de mora negra (*Morus nigra* L.) puede ser considerado una alternativa viable para la obtención de productos nutraceuticos y su aplicación como posible fitofármaco.

INTRODUCCIÓN

La mora negra (nombre común del fruto de *Morus nigra* L.) es una infrutescencia de color rojo a morado, según el grado de madurez, con longitudes de 3 mm de largo y 2.5 cm de ancho (Figura 1). Dentro del territorio mexicano crece de manera silvestre y su consumo en fresco es solamente local, es decir, no es de importancia económica. *M. nigra* pertenece a la familia Moraceae y su origen proviene del continente Asiático⁽¹⁾. Las hojas son utilizadas como infusiones medicinales, pero principalmente, se utilizan como fuente de alimento para el gusano de seda (*Bombix mori*) en la sericultura. Este invertebrado al consumir las hojas proporciona hilos finos, materia prima para la fabricación de las telas de seda. De acuerdo con la medicina tradicional China, las especies de *Morus*, tienen propiedades curativas atribuidas a diferentes partes de la planta. El fruto de algunos ejemplares, puede ser utilizado como laxante, antihelmíntico, expectorante, antiemético e hipoglucémico⁽²⁾. Las raíces y cortezas se pueden usar en el tratamiento de la anemia, artritis, reumatismo, hipertensión y diabetes, así como acción diurética y anticancerígeno^(1,3,4).

La presencia de compuestos polifenólicos (CP) es sobresaliente en los frutos de *M. nigra*, específicamente se ha descrito la presencia de antocianinas^(2,3,5,6) y flavonoides^(2,3,5,6,8). Químicamente los compuestos fenólicos se constituyen por lo menos de un anillo aromático y un sustituyente hidroxilo y/o sus derivados. Las antocianinas son un grupo destacado de CP, son pigmentos vegetales hidrosolubles responsables de la gama de colores que van desde rojos hasta azules las cuales, en la industria alimenticia, tienen gran potencial como colorantes naturales. Son glucósidos de las antocianidinas, a la que se le une covalentemente un azúcar por medio del enlace β -glucosídico.



Figura 3. Ejemplar del fruto de *M. nigra*.

Así mismo, la estructura química básica de las agliconas es el ion flavilio^(9,10), que consta de dos grupos aromáticos: un benzopirilio (A) y un anillo fenólico (B); el flavilio normalmente funciona como un catión (Figura 2). Las variaciones en el anillo B, dan origen a las aproximadamente 20 antocianinas que actualmente se conocen, de las que solo seis son las más abundantes: pelargonidina, delphinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina.

Los CP han generado interés científico debido principalmente a sus propiedades antioxidantes, el cual se ha intensificado gracias a sus efectos para la prevención y/o el tratamiento de ciertas enfermedades, ya que dichas moléculas tienen la capacidad de estabilizar los radicales libres y especies reactivas de oxígeno (EROs), que generan, el estrés oxidativo y a su vez se genera un desequilibrio homeostático celular, produciéndose excesos de sustancias "tóxicas" y potenciando el desarrollo de enfermedades crónicas como arteriosclerosis, cardiomiopatías, enfermedades neurológicas, diabetes y algunos tipos de cáncer⁽¹²⁾.



Figura 4. Estructura química de las antocianinas. Fuente: Durst & Wrolstad, 2001⁽¹¹⁾ con modificaciones

Hoy en día múltiples investigaciones han evaluado el beneficio a la salud, atribuido a los compuestos polifenólicos. Estudios de la corteza y hojas del árbol de la especie *Morus nigra* L, demuestran efectos antidiabéticos, anticancerígenos y antinociceptivos^(5,13,14). Sin embargo estudios relacionados con la aplicación del fruto y su efecto a la salud, hasta el momento son escasos.

El objetivo de la presente investigación fue caracterizar los compuestos fenólicos presentes en un extracto etanólico del fruto de *Morus nigra* L. y determinar su capacidad antioxidante. De tal manera se pretende aportar conocimiento básico para su posible aplicación en la formulación de un alimento funcional y/o nutracéutico.

METODOLOGÍA

El método experimental se realizó en el Centro Universitario de los Lagos de la Universidad de Guadalajara. Así como en el posgrado de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro

-Recolecta de material prima. Los frutos de *M. nigra* utilizados en este estudio fueron recolectados en Mayo de 2016 en el municipio de Lagos de Moreno, Jalisco, México (21° 23' Norte; 101° 55' Oeste). Se seleccionaron frutos maduros y visiblemente sanos, se lavaron y posteriormente se colocaron en ultracongelación a -70 °C (Solow ultra-low-freezer, E.U.A) hasta su posterior uso.

-Caracterización del fruto fresco. Se realizó la extracción por maceración en mortero de 1 g de mora fresca con 10 ml de etanol acidificado (2% ác. cítrico). Se filtró con papel Whatman # 2. Al extracto se le realizó la determinación de CP (antocianinas totales, flavonoides totales, fenoles totales) y se determinó la actividad antioxidante (DPPH y Prueba de poder reductor). Además se caracterizaron las propiedades fisicoquímicas; acidez titulable, pH y contenido de humedad de acuerdo a los métodos de la AOAC (2006)⁽¹⁵⁾.

-Cuantificación espectrofotométrica de polifenoles totales. El contenido total de compuestos fenólicos se determinó usando el método Folin-Ciocalteu de acuerdo con Singleton y Rossi (1965)⁽¹⁶⁾. Se tomaron 100 µL de extracto de fruto fresco y se mezclaron con 250 µL de reactivo de Folin 1N, dejándose en ultrasonido durante 5 minutos protegido de la luz. Posteriormente se adicionó 1.250 mL de Na₂CO₃ al 20% y 400 µL de agua destilada. La mezcla se dejó reposar en la oscuridad durante 2 horas a temperatura ambiente. La absorbancia se midió a

760 nm en espectrofotómetro (Jenway 6305, Inglaterra). El contenido fenólico total se expresó como mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por gramo de muestra, de acuerdo con la curva de calibración: $y=0.0062x + 0.0027$ ($R^2=0.9957$) contra un blanco.

-Cuantificación de antocianinas totales. Se realizó mediante el método de pH diferencial descrito por Giusti y Wrolstad (2000)⁽¹⁷⁾. Se tomaron dos alícuotas de 200 μ L de extracto, la primera con buffer de cloruro de potasio (0.025 M, pH 1) y la otra con solución buffer de acetato de sodio (0.4 M, pH 4.5). Las disoluciones se dejan reposar 15 minutos a temperatura ambiente protegidos de la luz. La absorbancia se midió a 520 nm y 700 nm, contra un blanco de agua destilada. La concentración de antocianinas monoméricas en solución (mg/L) se calculó como miligramos equivalentes de cianidina 3-glucósido (ECy3glu), según las ecuaciones 1 y 2:

$$\text{Antocianinas monoméricas} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{A \times MW \times DF \times 100}{\epsilon \times 1} \quad (1)$$

Donde:

$$A = (A_{520} - A_{700})_{pH=1} - (A_{520} - A_{700})_{pH=4.5} \quad (2)$$

MW: Peso molecular de la cianidina-3-glucósido: 449.2 g mol⁻¹; DF: es el factor de dilución; ϵ : coeficiente de absorción molar de la cianidina-3-glucósido (26900 L/cm \cdot mol)

-Cuantificación espectrofotométrica de flavonoides totales. La cantidad de flavonoides se cuantificó de acuerdo al método colorimétrico descrito por Liu y col. (2002)⁽¹⁸⁾. A 250 μ L del extracto se le adicionaron 1.250 ml de agua destilada, 75 μ L de NaNO₂ al 5%. La mezcla se dejó reposar durante 6 minutos, posteriormente se adicionó 150 μ L de AlCl₃ hexahidratado al 10%, se dejó en reposo durante 5 min y después se adicionó 500 μ L de NaOH 1M. Por último se agregó 275 μ L de agua destilada, la mezcla se homogenizó completamente y se leyó en el espectrofotómetro (Jenway 6305, Inglaterra) a 510 nm. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de (+)-catequina (EC) por gramo de muestra de acuerdo a la curva estándar: $y=0.0025x - 0.0286$ ($R^2=0.9918$) contra un blanco.

-Actividad antioxidante

-Ensayo de DPPH \cdot . La actividad antioxidante se determinó usando el radical libre 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH \cdot) de acuerdo a Brand-Williams y col. (1995)⁽²²⁾. El procedimiento de esta técnica consiste en una solución metanólica de DPPH \cdot en una concentración 150 μ M. Se diluyeron 100 mg de liofilizado en 10 ml de etanol. Se colocaron alícuotas de las muestras (300 μ L) y se adicionaron 3 ml de la solución de DPPH \cdot . Se agitaron las mezclas vigorosamente y se dejaron en oscuridad por media hora a temperatura ambiente. Pasado este tiempo se realizó la lectura en espectrofotómetro (Jenway 6305, Inglaterra) a 517 nm contra un blanco. Se elaboró una curva estándar de Trolox $\text{\textcircled{R}}$ ($y=0.1137x - 2.151$, $R^2=0.9953$). La actividad antiradical se expresó como porcentaje de inhibición, lo cual corresponde al porcentaje del radical DPPH \cdot neutralizado por la muestra a una determinada concentración, de acuerdo a la ecuación 3. Los resultados se expresaron como μ mol equivalentes de Trolox $\text{\textcircled{R}}$ (ET).

$$\begin{aligned} \% \text{Actividad antiradical (ARA)} \\ = \left(1 - \left(\frac{\text{absorbancia de muestra}}{\text{absorbancia del control}} \right) \right) \times 100 \quad (3) \end{aligned}$$

-Ensayo de poder reductor. La metodología se llevó a cabo de acuerdo con Yen y Chuang (2000)⁽²³⁾. Se disolvió 100 mg de ERA liofilizado en 10 ml de etanol. Posteriormente un 1 ml del extracto se mezcló con 5 mL de con buffer de fosfato (0.2 M, pH 6.6) y ferricianuro de potasio (5 mL, 1%) y la mezcla se incubó a 50 $^{\circ}$ C durante 20 min. Cinco mililitros de ácido tricloroacético (10%) se añadieron a la mezcla de reacción, que después se centrifugó a 3000 \times g durante 10 min. El sobrenadante de la solución (5 mL) se mezcló con agua desionizada (5 mL) y cloruro férrico (1 mL, 1%) y la absorbancia se midió a 700 nm. El aumento de absorbancia indica un mayor poder reductor. Se elaboró una curva estándar con Trolox $\text{\textcircled{R}}$ ($y=0.0008x + 0.0093$, $R^2=0.9941$). Los resultados se expresaron como μ mol equivalentes de Trolox $\text{\textcircled{R}}$ (ET).

-Elaboración de extracto rico en antocianinas (ERA). La elaboración del extracto rico en antocianinas (ERA) se realizó según la metodología descrita por Grace y col. (2009)⁽¹⁹⁾ e Idham y col. (2012)⁽²⁰⁾ con modificaciones (Figura 3). 1 kg de moras congeladas se mezcló con 1L de etanol absoluto, acidificado con 2% de ácido cítrico. La mezcla se sometió a homogeneización en una licuadora (Oster, México), posteriormente se filtró en múltiples capas de tela de tul. Se realizó un segundo filtrado a vacío utilizando papel Whatman # 2. El extracto etanólico recolectado se evaporó a un volumen aproximado de 610 mL en rotavapor (IKA RV 10 digital V) a temperatura de 40 $^{\circ}$ C. El extracto concentrado se fraccionó 4 veces frente a acetato de etilo (EtOAc). En la fracción hidroalcohólica resultante se eliminó el residuo de EtOAc, se sometió a cromatografía en columna (50 X 5 cm) utilizando Amberlita XAD-7HP como fase estacionaria. La muestra se corrió con una primer fase móvil de agua

acidificada (2% á. cítrico), con la finalidad de eliminar azúcares y ácidos fenólicos libres, hasta observar la eliminación de sólidos con un refractómetro (ABBE, NAR-IT, ATAGO, EUA). La mezcla polifenólica se eluyó con etanol absoluto acidificado (2% ác. cítrico). El eluido fue monitoreado mediante un barrido espectroscópico UV-Vis (Agilent Cary 60 UV-Vis, EUA) de 200 a 800 nm. Se conjuntaron las fracciones etanolicas que presentaron espectros característicos similares. Finalmente este conjunto de fracciones etanolicas se evaporó y liofilizó (Labconco freezezone 4.5, Canadá) obteniéndose un polvo con rendimiento del 8.5 %.

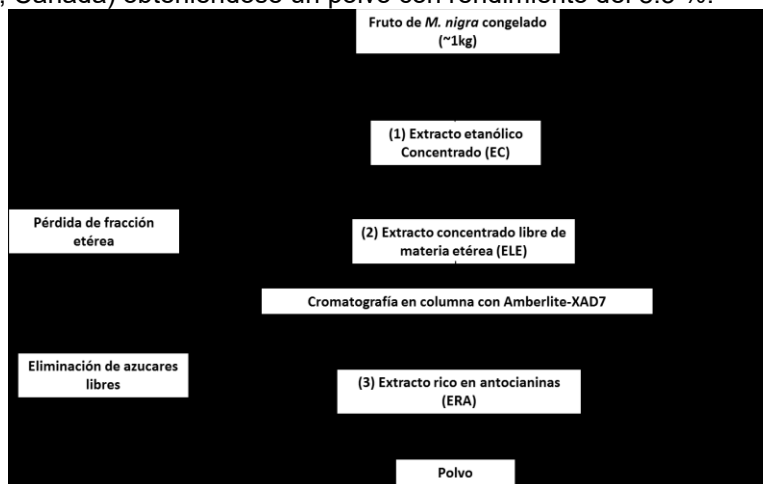


Figura 5. Diagrama de flujo para la obtención del extracto rico en antocianinas del fruto de *M. nigra*.

-Caracterización del extracto rico en antocianinas (ERA). Se diluyeron 100 mg de ERA liofilizado en 10 mL de etanol. Se realizó la determinación de CP de acuerdo a la metodología descrita anteriormente (apartados 2.3 al 2.6). Además se caracterizaron las propiedades fisicoquímicas; acidez titulable, pH y contenido de humedad de acuerdo a los métodos de la AOAC (2006)⁽¹⁵⁾.

-Identificación y cuantificación de compuestos polifenólicos por HPLC-DAD-ESI/MS. Se empleó la metodología descrita por Lomas-Soria y col (2015)⁽²¹⁾. El liofilizado de mora se diluyó en agua acidificada con 1% de ácido fórmico grado HPLC (10 mg/500µL). Se utilizó un equipo de HPLC-DAD (Agilent 1200, EUA) conectado a un espectrómetro de masas con cuadrupolo simple (Agilent 1100, EUA) equipado con una interfase de electrospray. Las muestras se inyectaron (20 µL) dentro de una columna de fase reversa (Agilent C-18 4.6 x 150 mm) a temperatura de 40 °C y a una velocidad de flujo de 1 mL/min. La fase móvil consistió de dos disolventes: (A) ác. fórmico: agua destilada 1:99 v/v y (B) acetonitrilo, y el gradiente de elución fue en una proporción (A/B) de 5/95 a 0 min, 30/70 a 20 min, 55/45 a 30 min, 90/10 a 38 min, 5/95 a 40 min, con un tiempo total de 45 min. Las absorbancias fueron medidas a 240, 320, 365, 380 y 520 nm. Para la cuantificación se utilizaron estándares de ácidos fenólicos, flavonoides y antocianinas (ác. gálico, ác. elágico, epigallocatequina-3-O-galato, cloruro de cianidina, cloruro de delfinidina, rutina y quercetina, de la marca Sigma-Aldrich, México). El espectrómetro de masas fue operado en modo ion negativo, siguiendo las siguientes condiciones: voltaje de capilar de 3000 V, presión de nebulizador según la bomba, flujo de gas de 10 L/min, temperatura de gas 300 °C. La precisión del espectro de masas fue medida a través del rango [m/z] de 50-2000.

2.10 Análisis estadístico. Todas las mediciones se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron con su media y desviación estándar. Los datos recaudados se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) de un factor y la significancia de la diferencia de medias se determinó mediante la prueba de Tukey ($p < 0.05$) usando el software estadístico IBM SPSS statistics versión 2.2.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

-Caracterización del fruto fresco. Los resultados de las propiedades fisicoquímicas y composición fitoquímica del fruto fresco de *M. nigra* se muestran en la Tabla 1. El fruto fresco presenta un sabor ácido, lo cual es congruente con los valores resultantes de pH (3.22 ± 0.026) y de acidez titulable (0.40 ± 0.03 % de ácido cítrico), resultados similares a lo descrito por Ferrari y col. (2012)⁽²⁴⁾. Debido a la procedencia y naturaleza de este alimento su principal constituyente es agua, con un valor de 90.06 ± 0.20 % de humedad. Dichos parámetros muestran un contenido de 148.5 ± 0.277 mg eq. de cianidina-3-glucósido (ECy3glu)/100 g de fruto fresco, 339.8 ± 0.9371 mg EAG/100 g de fruto fresco y 228.8 ± 1.278 mg eq. de (+)-catequina (EC)/100g de fruto fresco para

antocianinas totales, fenoles totales y flavonoides totales respectivamente. Además el fruto muestra una buena actividad antirradical ($4,802.1 \pm 51.3 \mu\text{mol eq. de Trolox/ 100g de fruto fresco}$) contra radicales DPPH. Basados en la prueba de poder reductor, el fruto muestra una buena capacidad de reducción equivalente a $1361.6 \pm 139.2 \mu\text{mol equivalentes de Trolox/ 100g de fruto fresco}$. Lo anterior por efecto de la reducción del cloruro de férrico a cloruro ferroso ($\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$) propiciada por los antioxidantes del extracto y su posterior formación de complejos con fenicianuro de potasio, generando un color azul denominado azul de prusia. El efecto reductor puede atribuirse a la alta presencia de antocianinas y fenoles totales de este fruto.

Tabla 3. Propiedades fisicoquímicos y fitoquímicos del fruto fresco de *M. nigra* L y el extracto rico en antocianinas.

Parámetros	Fruto fresco	Extracto rico en antocianinas (ERA)
pH	3.22 ± 0.026	2.99 ± 0.031
AT (% á. cítrico) ¹	0.40 ± 0.03	ND
Humedad (%)	90.06 ± 0.20	13.89 ± 0.61
Antocianinas Totales ²	148.5 ± 0.277^a	235.38 ± 1.56^b
Fenoles totales ³	339.8 ± 0.937^a	160.38 ± 2.04^b
Flavonoides ⁴	228.8 ± 1.278^a	70.18 ± 1.44^b
DPPH* ⁵	4802.1 ± 51.3^a	677.52 ± 1.10^b
Poder reductor ⁶	1361.6 ± 139.2^a	730.15 ± 2.25^b

Todos los resultados estan expresados con sus medias \pm desviación estándar. Las medias con diferentes letras en la misma fila representan diferencias significativas ($p < 0.05$) por ANOVA de un factor. ¹AT=Acidez titulable ²Equivalentes de cianidina-3-glucósido/100 g de ff; ³Equivalentes de ácido gálico/100 g de ff; ⁴Equivalentes de (+)-catequina/100 g de ff; ⁵ Equivalentes de Trolox/100 g de ff; ff=fruto fresco; ND= no determinado

Estudios previos han examinado el contenido fenólico, flavonoides, antocianinas y actividad antioxidante del fruto de *M. nigra* de diferentes países y regiones. Por ejemplo, en el estudio de Amezquita y Centeno (2016)⁽²⁵⁾ realizaron determinaciones en frutos de la misma región que el presente estudio. Estos autores reportan un contenido de $85.71 \text{ mg ECy3glu/100g de fruto fresco}$, $141.7 \text{ mg EC/100g de fruto fresco}$ y $358.2 \text{ mg EAG/100 g de fruto fresco}$ para antocianinas, flavonoides y fenoles, respectivamente. Estos valores son inferiores al ser comparados con los de la presente investigación. A pesar de ser ejemplares de la misma ubicación geográfica la discrepancia existe debido a que las muestras se recolectaron en diferente año. Los factores ambientales proporcionan cambios favorables o desfavorables, en la biosíntesis de estos metabolitos secundarios, es decir, la diferencia de época y factores ambientales son variables que se deben considerar en el contenido polifenólico, ya que los metabolitos secundarios son sintetizados por las plantas como consecuencia de efectos de estrés, luz UV entre otras condiciones adversas, según sean las necesidades de estos organismos.

La diferencia en la metodología de extracción puede ser otro factor por el cual se obtuvo mayor resultado. Por ejemplo, Kutlu y col. (2011)⁽⁷⁾ reportaron la cuantificación de antocianinas, fenoles y flavonoides para diferentes extractos de frutos de *M. nigra* en Turquía; presentando un contenido fenólico total de $555, 462$ y $332 \mu\text{g de EAG/ml de extracto}$; para extracciones de metanol acidificado, agua acidificada y mezcla de agua: metanol acidificado (1:1), respectivamente. Si bien, estos resultados no precisamente son comparables con los de la presente investigación, si se puede hacer mención que se obtuvo una considerable presencia de CP. Es conocido que solventes como etanol y metanol acidificados son los que proporcionan mayor extracción de CP, sin embargo, el metanol es más tóxico que el etanol para el consumo humano. Motivo por el cual múltiples investigaciones optan por emplear este solvente^(6,7).

Por otra parte, Ercisli y Orhan (2007)⁽²⁾ reportan un contenido de flavonoides totales con un valor de $226 \text{ mg equivalentes de quercetina/100 g de fruto fresco}$ y de $1422 \text{ mg EAG/100g de fruto fresco}$ para fenoles totales; cuantificados en el fruto de *M. nigra*. El contenido de fenoles totales se muestran inferiores a los determinados en este estudio. Estas diferencias se deben a las diversas condiciones ambientales de los cultivares, mencionadas anteriormente, y a las diferencias genotípicas de los frutos. Asimismo, las divergencias del contenido polifenólico depende de la duración de la extracción, la polaridad del disolvente para la extracción, métodos utilizados y las condiciones de la materia vegetal (madurez, en fresco, edad, etc.).

-Extracto rico en antocianinas (ERA). Se monitoreo el proceso de obtención para el ERA en sus diferentes etapas de extracción (Figura 3). Un parámetro importante fue la medición del pH, el cual oscilo entre 2.53-3.25. Las condiciones ácidas son de suma importancia para mantener estables las antocianinas presentes del extracto, puesto que valores de pH inferiores a 3 mantienen la estructura química en forma de catión flavilio, estructura de mayor estabilidad. El extracto etanólico concentrado (EC) de la etapa 1 mostró un valor de pH de 2.93 ± 0.11 , 36.67 ± 0.28 °Brix y 0.48 ± 0.004 % de acidez titulable (equivalentes de ácido cítrico) en un volumen de ~610 ml. Para el extracto libre de materia etérea (ELE) de la etapa 2, se obtuvo un volumen final de ~380 ml (Figura 3), así mismo, presentó un valor de pH de 3.25 ± 0.05 , 43.67 ± 1.04 °Brix y 0.429 ± 0.002 % de acidez titulable (equivalentes de ácido cítrico). ELE se repartió en dos corrida por cromatografía en columna independientes, con la finalidad de no saturar la columna. Se obtuvo un total de 65 y 63 fracciones para cada corrida cromatografica respectivamente. De las cuales se obtuvieron 24 y 23 fracciones eluidas con agua acidificada para cada corrida respectivamente, en volúmenes de entre 50 a 100 ml cada una; mismas que presentaron un valor máximo de 28°Brix y un mínimo constante de 1.5 °Brix. El fraccionamiento con Amberlite XAD7-HP en cromatografía en columna, es usualmente utilizado para retener los CP, de tal manera, facilita la eliminación de los azúcares libres cuando se eluye con la fase móvil de agua acidificada. Del total de las fracciones obtenidas, se colectaron 41 y 40 eluidas con etanol acidificado para cada corrida respectivamente, con volúmenes entre 25 a 30 ml cada una, estas fueron monitoreadas por espectroscopia UV-Vis. Se analizó cada espectro de cada fracción etanólica, posteriormente se conjuntaron las fracciones que presentaron espectros similares con la finalidad de obtener el extracto rico en antocianinas (Figura 3). El ERA obtenido en la etapa 3 mostró un valor de pH de 2.53 ± 0.25 , el cual se liofilizó obteniéndose un polvo con un rendimiento del 8.5%.

-Espectros UV-Vis. Los espectros de absorción de las fracciones etanólicas obtenidos por espectrofotométrica UV-Vis indicaron 2 principales picos a ~537 nm como máximo y ~290nm (Figura 4). Este patrón es característico de espectros de antocianinas⁽¹¹⁾. Los resultados de los espectros de absorción UV-Vis del presente estudio son congruentes con los espectros de antocianinas reportados por Kutlu y col. (2011)⁽⁷⁾ en el fruto de *M. nigra* extraídas con diferentes disolventes y a su vez convergen con lo reportado por de Giusti y Wrolstad (2003)⁽⁸⁾. Los espectros de absorción UV-Vis son utilizados como herramientas para la elucidación de compuestos. Al hacer incidir un haz de luz en la muestra, los electrones absorbidos por los grupos cromoforos y en los dobles enlaces conjugados presentes en los compuestos, son excitados, propiciando un desplazamiento batocrómico del espectro en la región de la luz visible. Específicamente para las antocianinas existe información en espectroscopia UV-Vis para ayudar a caracterizar la estructura química de este tipo de compuestos. Por ejemplo, la presencia y número de acilaciones en la molécula se puede deducir a partir de la relación $A_{\text{máx-acil}}/A_{\text{máx-vis}}$; la $A_{\text{máx-acil}}$ se encuentra entre los 310 y 320 nm. Si esta relación es menor a 0.4 no hay acilación, valores entre 0.5 y 0.7 indican la presencia de una acilación, mientras que valores entre 0.8 y 1.1, indican que hay dos acilaciones en el anillo aromático. La posición de la glicosilación se puede determinar a partir de la relación $A_{440}/A_{\text{máx-vis}}$. Si esta relación es cercana o mayor a 0.3, la glicosilación está en la posición 3, pero si la relación es menor a 0.2, indica que la antocianina tiene dos glicosilaciones en las posiciones 3 y 5⁽⁸⁾. En relación a la información anterior, las antocianinas presentes en el ERA de mora no presentan sustituyentes acilos y posiblemente algunas de ellas presentan doble glicosilación (Figura 4).

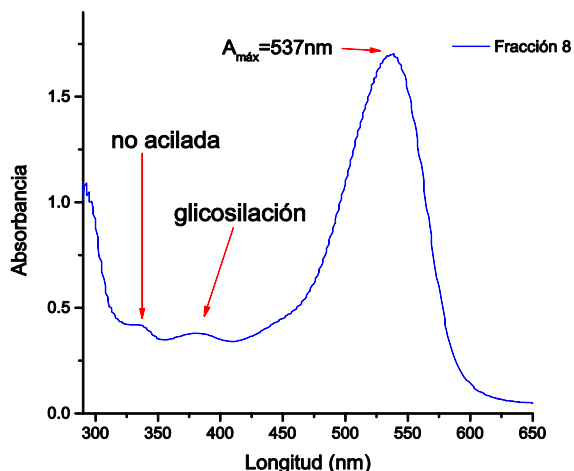


Figura 6. Espectro UV-Vis característico de antocianinas presentes en extracto rico en antocianinas (ERA).

-Caracterización del extracto rico en antocianinas (ERA). La Tabla 1 muestra los resultados obtenidos del extracto rico en antocianinas. Al ser un polvo liofilizado su contenido de humedad es bajo (13.89 ± 0.61 %) comparado con la humedad del fruto. El valor de pH (2.99 ± 0.031) se encontró dentro del rango deseado para dar estabilidad a las antocianinas. Los resultados muestran una concentración importante de CP, presentando 235.38 ± 1.56 mg ECy3glu/100 g de fruto fresco para antocianinas totales, 160.38 ± 2.04 mg EAG/100g de fruto fresco para fenoles totales y 70.18 ± 1.44 mg EC/100g de fruto fresco para flavonoides totales. El ERA muestra buena capacidad de reducción de radicales DPPH* con un valor de 677.52 ± 1.10 μ mol ET/100g de fruto fresco y una capacidad reductora, afirmada por la prueba de poder reductor, con un valor de 730.15 ± 2.25 μ mol ET/100g de fruto fresco. Los resultados del contenido de antocianinas del ERA muestran diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) con los determinados en el fruto en fresco del presente estudio, mediante el análisis de ANOVA. El proceso de obtención y purificación dirigido al enriquecimiento de antocianinas, implica la reducción del contenido de flavonoides y fenoles totales, sin embargo, manifiesta el hecho de la obtención de un pigmento natural de mayor pureza, el cual en la industria alimenticia, cosmética y productos farmacéuticos tiene gran demanda, debido a que son pigmentos vegetales con gran potencial de remplazo competitivo frente a los colorantes sintéticos, estos últimos se ha observado tener efectos tóxicos⁽¹⁰⁾. Además este proceso de extracción, facilita el manejo de la muestra al analizarse mediante HPLC-DAD-ESI/MS.

Kostić y col. (2013)⁽⁶⁾ reportan la cuantificación de polifenoles del fruto de *M. nigra* de diferentes extractos (etanol acidificado, agua: etanol acidificado y agua acidificada), encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre los mismos ($p < 0.05$). Dichos autores reportan un contenido polifenólico en el extracto etanólico de 125.84 ± 2.22 mg ECy3glu/100g de fruto fresco, 90.26 ± 0.92 mg EAG/100g de fruto fresco y 90 ± 11.50 mg EC/100g de fruto fresco, para antocianinas totales, fenoles totales y flavonoides respectivamente. Además, reportan una actividad antioxidante contra radicales DPPH importante para este extracto, con un valor de 168.71 ± 9.91 expresados como equivalentes de Trolox. Dichas determinaciones se muestran inferiores a los reportados aquí, aunado a ello, se reafirma el hecho de que los diferentes métodos de extracción pueden proporcionar diferencias en el contenido polifenólico.

-Identificación y cuantificación de polifenoles mediante HPLC-DAD-ESI/MS.

Se llevo a cabo la identificación y cuantificación de los compuestos en el fruto de *M. nigra* por HPLC-DAD-ESI/MS, encontrándose en el cromatograma 8 compuestos (Figura 5). Se identificaron tres antocianinas a 520nm: (1) Pelargonidina-3-O-rutinósido, (2) Delfinidina-3-O-rutinósido y (3) un isómero de Delfinidina-3-O-rutinósido. Igualmente se identificaron dos derivados de ácidos hidroxicinámicos detectados a 320nm: (4) Ácido 4,5-dicafeoilquínico y (5) Ácido 5-cafeoilquínico. Además, se identificaron 2 flavonoides a 365 nm: (6) Quercetina-3-O-rutinósido y (7) Kaempferol 3-7-O-diglucósido y por último un compuesto no identificado (8).

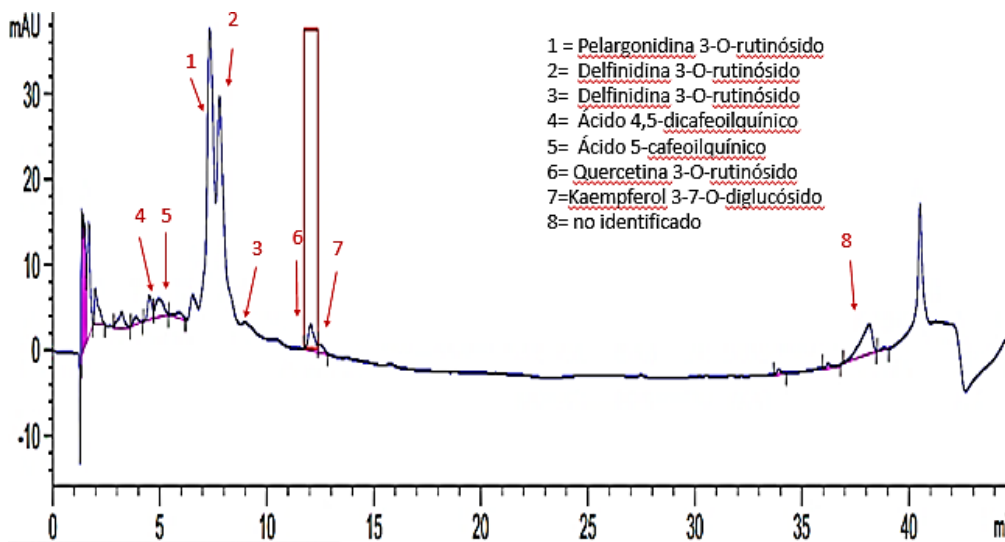


Figura 7. Cromatograma HPLC-DAD del fruto de *M. nigra*

En la Tabla 2 se muestran los datos cromatográficos, espectroscópicos, espectrométricos y de cuantificación de los compuestos elucidados. Las estructuras de los compuestos aislados fueron establecidos por datos de espectrometría de masas y confirmado por comparación con reportes en literatura y bases de datos de polifenoles^(3,4,26). Por ejemplo, la elucidación del compuesto 1 (pelargonidina-3-rutinósido) se obtuvo mediante el análisis del espectrómetro de masas presentando pico de ion molecular $m/z=579.2$ con iones de fragmentación de m/z 561.2 [M-18], 447.1 [M-142] debido a la pérdida de una molécula de agua, una ruptura de un ramnosilo, respectivamente y un fragmento $m/z=271$ que evidencia la presencia de una pelargonidina (Figura 6.c), como complemento para la elucidación el espectro UV-Vis proporcionado por el arreglo de fotodiodos a 520nm. Se empleó el mismo criterio y procedimiento para la elucidación de los demás compuestos obtenidos.

Tabla 4. Identificación y cuantificación de polifenoles mediante HPLC-DAD-ESI/MS

Familia	Tiempo de retención (min)	Compuesto	m/z	λ (nm)	Contenido (mg/g de extracto) ^a	
					Extracto etanólico	SD (\pm)
Antocianinas	7.335	Pelargonidina 3-O-rutinósido	579.2	520	33.72	0.05
	7.796	Delfinidina 3-O-rutinósido	611.2	520	26.49	0.12
	8.967	isomero Delfinidina 3-O-rutinósido	611.2	520	1.36	0.03
Ácidos hidroxicinámicos	4.520	Ácido 4,5-dicafeoilquinico	515.1	320	0.48	0.02
	4.953	Ácido 5-cafeoilquinico	353.1	320	0.28	0.02
Flavonoles	12.062	Quercetina 3-O-rutinósido	609.1	365	1.10	0.03
	12.337	Kaempferol 3-7-O-diglucósido	609.1	365	0.59	0.00

^aValores de las medias (n=2). Los datos estan representados con sus medias y desviación estándar.

El valor total de antocianinas fue de 61.56 mg/g de extracto. Pelargonidina-3-O-rutinósido se encontró en la mayor concentración (54.77%) seguida de delfinidina-3-O-rutinósido (43.02%) y, finalmente, por el isómero de delfinidina-3-rutinósido (2.20 %). Los resultados encontrados en esta investigación del fruto mexicano de *M. nigra* no están completamente de acuerdo con los reportados por Pawlowska y col. (2008)⁽³⁾ y Pierkarski (2013)⁽⁴⁾. Si bien, algunos de los compuestos encontrados coinciden con los reportados, algunos otros no se presentaron, caso especial es la cianidina, antocianina frecuentemente encontrado en frutos de tipo baya. Estas diferencias en la composición de flavonoides en los frutos, pueden atribuirse a las condiciones de los cultivares, condiciones y tipo de suelo, la región geográfica y el estado de madurez del fruto⁽³⁾.

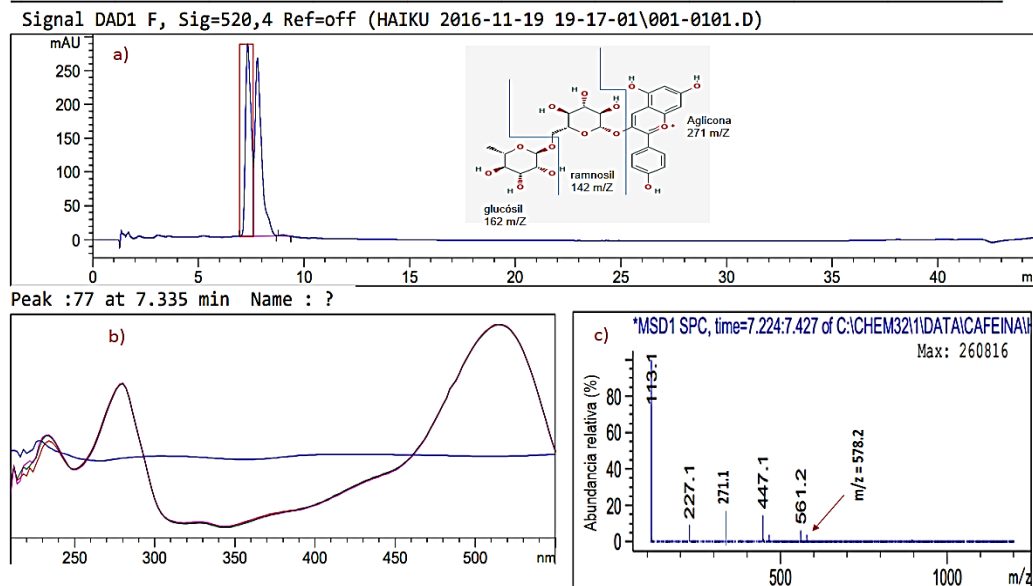


Figura 8. Ejemplo de elucidación de compuestos presentes en fruto de *M. nigra* L.

a) Cromatograma HPLC-DAD a 520 nm obtenido para pelargonidina-3-rutinósido. b) Espectro UV-Vis de pelargonidina-3-rutinósido a 520 nm por detector de arreglo de fotodiodos (HPLC-DAD). c) Espectrometría de masas obtenido para pelargonidina-3-rutinósido.

CONCLUSIONES

El fruto de *Morus nigra* L. presenta un alto contenido de antocianinas, flavonoides y fenoles totales, así como importante capacidad antioxidante; por lo que es necesario divulgar estos resultados a fin de generar conciencia en la población para aumentar su consumo y aprovechamiento. Por su importante contenido de compuestos polifenólicos, específicamente de antocianinas, el fruto de *Morus nigra* podría ser considerado como un alimento funcional y con un valor fitomedicinal. El presente estudio aporta conocimientos básicos para que estos frutos puedan ser empleados como alimento funcional, como fuente de pigmento o en la industria farmacéutica. Sin embargo, aún se necesitan estudios biológicos y farmacológicos más detallados para mayor clarificación y una mejor comprensión de los beneficios a la salud que aporta este fruto rico en antocianinas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sánchez, M. D. "World distribution and utilization of mulberry and its potential for animal feeding", *Animal Production and Health Paper*, Vol. 147, 1., 2002.
2. Ercisli, S., & Orhan, E. "Chemical composition of white (*Morus alba*), red (*Morus rubra*) and black (*Morus nigra*) mulberry fruits", *Food Chemistry*, Vol. 103,4, 2007, pp.1380-1384.
3. Pawlowska, A., Oleszek, W., & Braca, A. "Quali-quantitative analyses of flavonoids of *Morus nigra* L. and *Morus alba* L.(Moraceae) fruits2. *Journal of agricultural and food chemistry*, Vol. 56,9, 2008, pp. 3377-3380.
4. Pierkarski, P. "Análise nutricional e fitoquímica de frutos da *Morus nigra* L." Tesis magistral, Universidad federal de Paraná, Parana. 2013. Recuperado el 31 de agosto de 2015, de <http://dSPACE.c3sl.ufpr.br/dSPACE/handle/1884/32153>
5. Khalid, N., Fawad, S. A., & Ahmed, I. "Antimicrobial activity, phytochemical profile and trace minerals of black mulberry (*Morus nigra* L.) fresh juice". *Pakistan J. Bot*, Vol. 43, 2011, pp 91-96.
6. Kostić, D. A., Dimitrijević, D. S., Mitić, S. S., Mitić, M. N., Stojanović, G. S., & Živanović, A. V. "Phenolic content and antioxidant activities of fruit extracts of *Morus nigra* L (Moraceae) from Southeast Serbia". *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, Vol. 12, 1, 2013, pp105-110.
7. Kutlu, T., Durmaz, G., Ates, B., Yilmaz, I., & Cetin, M. S. "Antioxidant properties of different extracts of black mulberry (*Morus nigra* L.)". *Turk J Biol*, Vol. 35,1, 2011, pp 103-110.

8. Giusti, M., & Wrolstad, R. "Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems". *Biochemistry and Engineering Journal*, Vol. 14, 2003, pp 217.
9. Badui Dergal, S. "Química de los alimentos" (5 ed.). México: Pearson. 2013
10. Garzón, G. "Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión". *Acta Biológica Colombiana*, Vol. 13,3, 2008, pp 27-36.
11. Durst, R. W., & Wrolstad, R. E. "Separation and characterization of anthocyanins by HPLC". *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. 2001, pp 33-35.
12. Castaneda-Ovando, A., de Lourdes Pacheco-Hernández, M., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., & Galán-Vidal, C. A. "Chemical studies of anthocyanins: A review." *Food chemistry*, Vol. 113,4, 2009, pp 859-871.
13. de Pascual-Teresa, S., & Sanchez-Ballesta, M. T. "Anthocyanins: from plant to health". *phytochemical Review*, Vol. 7, 2, 2008, pp 281-299.
14. Qadir, M. I., Ali, M., & Ibrahim, Z. "Anticancer activity of *Morus nigra* leaves extract." *Bangladesh Journal of Pharmacology*, Vol. 9, 4, 2014, pp 496-497.
15. AOAC, Association of Official Analytical Chemists. "Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists" (18 ed.). Gaithersburg MD: Press, AOAC. 2006
16. Singleton, V. L., & Rossi, J. A. "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents". *American journal of Enology and Viticulture*, Vol. 16, 3, 1965, pp 144-158.
17. Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. "Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy." *Current protocols in food analytical chemistry*. 2000
18. Liu, M., Li, X. Q., Weber, C., Lee, C. Y., Brown, J., & Liu, R. H. "Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries." *Journal of Agricultural and food Chemistry*., Vol. 50, 2002, pp 2926-2930.
19. Grace, M. H., Ribnicky, D. M., Kuhn, P., Poulev, A., Logendra, S., Yousef, G. G., & Lila, M. A. "Hypoglycemic activity of a novel anthocyanin-rich formulation from lowbush blueberry, *Vaccinium angustifolium* Aiton". *Phytomedicine*, Vol. 16,5, 2009, pp406-415.
20. Idham, Z., Muhamad, I. I., & Sarmidi, M. R. "Degradation kinetics and color stability of spray-dried encapsulated anthocyanins from hibiscus sabdariffa L." *Journal of Food Process Engineering*, Vol. 35, 4, 2012, pp 522-542.
21. Lomas-Soria, C., Pérez-Ramírez, I. F., Caballero-Pérez, J., Guevara-Gonzalez, R. G., Guevara-Olvera, L., Loarca-Piña, G., & Reynoso-Camacho, R. "Cooked common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) modulate renal genes in streptozotocin-induced diabetic", *The Journal of nutritional biochemistry*, Vol. 26, 7, 2015, pp 761-768.
22. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity", *LWT-Food Science and Technology*, Vol.28,1,1995, pp 25-30.
23. Yen, G. C., & Chuang, D. Y. "Antioxidant activity of anthraquinones and anthrone". *Food Chemistry*, Vol. 70, 4, 2000, pp 437-441.
24. Ferrari, C. C., Germer, S. P., & de Aguirre, J. M. "Effects of spray-drying conditions on the physicochemical properties of blackberry powder", *Drying Technology*, Vol. 30, 2, 2012, pp 154-163.
25. Amezcua, L. F., & Centeno, M. "Análisis químico proximal, perfil fitoquímico y capacidad antioxidante de hojas y frutos de la morera (*Morus nigra*)". Tesis de licenciatura, Centro Universitario de los Lagos. Universidad de Guadalajara, Lagos de Moreno, Jalisco, México. 2016.
26. Neveu, V., Perez-Jiménez, J., Vos, F., Crespy, V., du Chaffaut, L., Mennen, L., ...Scalbert, A. "Scalbert A Phenol-Explorer: an online comprehensive database on polyphenol contents in foods". 2010, doi:10.1093/database/bap024.

INTERACCIÓN DE LA RUTA DE REPARACIÓN POR ESCISIÓN DE BASES (BER) CON LA PROTEÍNA MFD Y SUS EFECTOS EN LA MUTAGÉNESIS ADAPTATIVA DE *BACILLUS SUBTILIS*

Hilda Cecilia Leyva Sánchez; Armando Obregón-Herrera; Mario Pedraza Reyes

Departamento de Biología, Universidad de Guanajuato, Noria Alta s/n CP. 36050, Guanajuato, Gto. MÉXICO.

RESUMEN

La mutagénesis adaptativa (MA) permite a poblaciones celulares estresadas alterar su genoma para favorecer su proliferación bajo una presión selectiva no letal. Este proceso existe en eucariotas y bacterias, incluyendo *B. subtilis*. En el presente trabajo, utilizando enfoques genéticos y moleculares se investigan los mecanismos que propician eventos de reparación con tendencia al error y que favorecen la proliferación de esta bacteria, bajo condiciones que limitan su crecimiento. En particular se analiza la interconexión entre la proteína Mfd y las rutas de reparación de DNA involucradas en eliminar lesiones propiciadas por el estrés oxidativo como la 8Oxo-G y los sitios abásicos (AP) y bases erróneamente apareadas. Los resultados obtenidos a la fecha sugieren que Mfd es capaz de promover eventos mutagénicos mediante el bypass transcripcional y/o eventos de reparación con propensión al error en sitios AP y roturas de cadena sencilla.

INTRODUCCIÓN

La capacidad de los organismos para generar mutaciones es una parte esencial del proceso evolutivo. La mutagénesis adaptativa o de fase estacionaria (MFE), un proceso que permite a las poblaciones de células estresadas adquirir mutaciones que favorecen su crecimiento bajo una presión selectiva no letal, como la limitación de nutrientes (3,12)

Este proceso ocurre tanto en eucariotes como en bacterias (5,7,8). Sung y Yasbin (2002) demostraron que la mutación adaptativa ocurre en *B. subtilis*, mediante el empleo de la cepa YB955, midiendo la reversión de las auxotrofías cromosómicas *hisC952*, *metB5* y *leuC452* (12). En estudios posteriores se demostró que la inactivación genética del sistema GO (*ytkD*, *mutM* y *mutY*) generó un efecto hipermutagénico en los alelos *hisC952* y *metB5* de células de *B. subtilis* carentes de división, sugiriendo fuertemente que la MFE es exacerbada por las especies reactivas de oxígeno (13). Interesantemente, para el alelo *leuC425* de la cepa YB955 no se observaron cambios en el número de revertantes entre la mutante deficiente en GO y la cepa parental. Posteriormente, se encontró que la regulación de la actividad de MutY por el sistema de bases erróneamente apareadas (MMR) modula la MFE que ocurren en el alelo *leuC425* (4).

Estudios recientes sugieren fuertemente que el sistema de reparación por escisión de bases (BER) es un componente importante en la MFE. Se encontró que la cepa YB955 deficiente en las AP-endonucleasas Nfo, ExoA y Nth (Δnfo *exoA* *nth*) elevó significativamente la cifra de revertantes en los alelos *hisC952*, *metB5* y *leuC452* con respecto a la cepa parental (1). Interesantemente, la inactivación de PolX, una DNA polimerasa de baja fidelidad replicativa, contrarrestó dicho efecto (1). Estos resultados sugieren fuertemente que el procesamiento erróneo de los sitios de AP y/o roturas de cadena constituyen un mecanismo que promueve la MFE en *B. subtilis*.

Evidencia experimental sólida ha demostrado que los procesos transcripcionales afectan la MFE en distintas bacterias (9). En *B. subtilis*, la proteína Mfd promueve las mutaciones en células sin división sujetas a estrés nutricional (6,10).

Para investigar si el factor de transcripción Mfd actúa en una ruta común con el sistema BER para generar reversiones adaptativas en los alelos *hisC*, *metB* y *leuC* de la cepa YB955 de *B. subtilis*, en el presente trabajo se examina a nivel genético su interacción con las proteínas del sistema BER.

PARTE EXPERIMENTAL

Para el crecimiento de *B. subtilis* se utilizó el medio de cultivo Luria-Bertani (LB). Los experimentos de mutagénesis adaptativa se realizaron en medio A3 (12) de acuerdo al protocolo descrito por Sung y Yasbin (2002). Cuando se requirió, se agregaron los siguientes antibióticos a los medios de cultivo: cloranfenicol (Cm; 5 µg/mL), eritromicina (Em; 5 µg/mL), tetraciclina (Tet; 15 µg/ml), neomicina (Neo; 10 µg/ml) y espectinomina (Spc; 100 µg/ml). Las cepas bacterianas utilizadas en este estudio fueron construidas usando técnicas estándar

de biología molecular (11) y la preparación y transformación de células competentes de *B. subtilis* se realizó de acuerdo al método descrito por Boylan y col. (2).

RESULTADOS

Generación de mutantes de *B. subtilis* deficientes en GO/Mfd y Nfo/Exo/Nth/Mfd

Para obtener una mutante nula en los genes *ytkD mutM mutY* y *mfd* en el fondo genético YB955, se transformó la cepa *B. subtilis* PERM1516 ($\Delta ytkD mutM mutY$) con el plásmido pPERM1291, el cual contiene un casete de resistencia a Spc flanqueado en ambos lados por aproximadamente 500 pares de bases del marco de lectura abierto del gen *mfd*. Las transformantes resistentes a Spc se procesaron para corroborar la correcta interrupción del gen *mfd* mediante PCR utilizando un set de oligonucleótidos específicos. Los productos de la amplificación se analizaron en un gel de agarosa al 1%. Los resultados de la Fig. 1A muestran la obtención de una banda de amplificación del tamaño esperado (~2419 pb) en una de las transformantes analizadas lo que corroboró la obtención de la cuádruple mutante $\square GO mfd$. Para la obtención de una mutante cuádruple, deficiente en los genes *nfo*, *exoA*, *nth* y *mfd*, se siguió una estrategia similar, excepto que la interrupción del gen *mfd* con el plásmido pPERM1291 se realizó en células competentes de la cepa *B. subtilis* PERM1409 (*nfo exoA nth*). La correcta interrupción del gen *mfd* en este fondo genético se muestra en la Figura 1B.

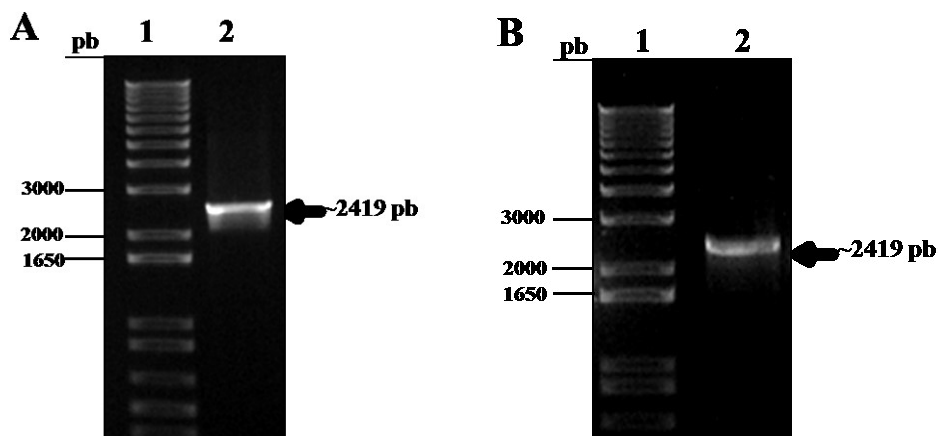


Figura 1. Corroboración por PCR de la interrupción del gen *mfd* en dos cepas de *B. subtilis*. A) PERM1517 ($\Delta ytkD mutM mutY mfd$) y B) PERM1409 ($\Delta nfo exoA nth mfd$). Carril 1, marcadores de peso molecular de ADN de 1 Kb. Carril 2, producto de amplificación obtenido. La temperatura de alineamiento utilizada para ambos casos fue 60.1 °C.

Papel de Mfd en los eventos mutagénicos promovidos por el sistema BER en células de *B. subtilis* estresadas nutricionalmente

Mfd se transcribe principalmente durante la fase estacionaria (6). Interesados en conocer su relación con el sistema BER en la MFE, se analizó el efecto de la pérdida de este gen en la cepa YB955 carente de las AP endonucleasas Nfo ExoA y Nth. Los resultados preliminares mostraron una reducción significativa en la producción de revertantes en los tres alelos probados en la cuádruple mutante en comparación con la mutantes *nfo*, *exoA*, *nth* y la cepa parental YB955. Además, se encontró que la inactivación genética de *mfd* indujo un resultado similar en la mutante $\square GO$. En conjunto, los resultados obtenidos a la fecha sugieren que Mfd puede promover “bypass” transcripcional o eventos de reparación con propensión al error en las regiones que contienen las lesiones promovidas por las especies reactivas de oxígeno, incluyendo bases oxidadas, malos apareamientos G:A, C:A, así como sitios AP y roturas de cadena sencilla.

CONCLUSIONES

1) Se construyeron y caracterizaron molecularmente las mutantes nulas de *B. subtilis ytkD/mutM/mutY/mfd* y *nfo/exoA/nth/mfd*.

2) Los resultados preliminares sugieren que Mfd promueve la mutagénesis transcripcional en células de *B. subtilis* carentes de división celular mediante un mecanismo que involucra la reparación errónea de substratos del sistema BER.

FINANCIAMIENTO

Trabajo apoyado por CONACYT (Subsidios: 205744 and 221231) y UGTO (Subsidios: 936-2016 and 1090-2016). HC, LS fue apoyada con una beca doctoral de CONACyT.

BIBLIOGRAFÍA

1. Barajas-Ornelas, R. del C., Ramírez-Guadiana, F. H. Juárez-Godínez, R. Ayala-García, V. M. Robleto, E. A. Yasbin, R. E. y Pedraza-Reyes M. "Error-Prone Processing of Apurinic/Apyrimidinic (AP) Sites by PolX Underlies a Novel Mechanism That Promotes Adaptive Mutagenesis in *Bacillus subtilis*". *J. Bacteriol.* 2014, 196, 3012-22
2. Boylan, R.J., N.H. Mendelson, D. Brooks, y F.E. Young. "Regulation of the bacterial cell wall: analysis of a mutant of *Bacillus subtilis* defective in biosynthesis of teichoic acid". *J. Bacteriol.* 1972, 110: 281-290.
3. Cairns, J., and P. L. Foster. "Adaptive reversion of a frameshift mutation in *Escherichia coli*". *Genetics.* 1991, 128:695-701.
4. Debora B.N., Vidales L.E., Ramírez R., Ramírez M., Robleto E.A., Yasbin R.E., Pedraza-Reyes M. "Mismatch repair modulation of MutY activity drives *Bacillus subtilis* stationary-phase mutagenesis". *J. Bacteriol.* 2011,193:236-245.
5. Foster, P.L., y J.M. Trimarchi. "Adaptative reversion of a frameshift mutation in *Escherichia coli* by sample base deletions in homopolymeric runs". *Science.*1994, 265: 407-409.
6. Gómez-Marroquín, M., Martín H.A., Prsbrey, A., Pepper, A., Girard, M., Cortes, A., Vallin, C., Yasbin, R.E., Pedraza-Reyes, M. y Robleto E.A. "Stationary-phase mutagenesis in stressed *Bacillus subtilis* cells operates by Mfd-dependent mutagenic pathways". *Genes (Basel).* 2016, 7(7): 33
7. Halas, A., H. Baranowska, y Z. Policinska. "The influence of the mismatch repair system on stationary-phase mutagenesis in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*". *Curr. Genet.* 2002. 42:140-146.
8. Kasak, L., Horak, R. y Kivissar, M. " Promoter-creating mutations in *Pseudomonas putida*: a model system for the estudy of mutation in starving bacteria". *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 1997, 94: 3134-3139.
9. Pybus, C. Pedraza-Reyes, M. Ross, C. A, Martin, H. Ona, K. Yasbin, R. E. y Robleto, E. "Transcription-associated mutation in *Bacillus subtilis* cells under stress". *J. Bacteriol.* 2010, 192: 3321-8.
10. Ross, C., Pybus, C., Pedraza-Reyes, M., Sung, H.-M., Yasbin, R. E. y Robleto, E. "Novel role of mfd: effects on stationary-phase mutagenesis in *Bacillus subtilis*". *J. Bacteriol.* 2006, 188: 7512-20.
11. Sambrook, J. Fritsch, E. F. y Maniatis, T. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. New York.
12. Sung, H. y Yasbin, R. E. "Adaptive or Stationary-Phase, Mutagenesis , a Component of Bacterial Differentiation in *Bacillus subtilis*". 2002a, 184: 5641-53.
13. Vidales L.E., Cárdenas L.C., Robleto E.A., Yasbin R.E., Pedraza-Reyes M. "Defects in the error prevention oxidized guanine system potentiate stationary-phase mutagenesis in *Bacillus subtilis*". *J. Bacteriol.* 2009, 191:506-513.

SELECCIÓN DE MICROORGANISMOS CON ACTIVIDAD PROMOTORA DE CRECIMIENTO EN PLANTAS DE UN ÁREA NATURAL PROTEGIDA

Tania Itzel Yáñez Paniagua, María Azucena Márquez Lucio y Francisco Alejo Iturvide

Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. fralejo@itesi.edu.mx

RESUMEN

El presente estudio está enfocado en la selección de microorganismos con actividad promotora de crecimiento en plantas del ANP Cerro del Cubilete en Silao, Guanajuato. Algunos aislados presentaron mayor capacidad para promover el crecimiento de plantas y aumentar su productividad y son conocidos por sus siglas en inglés como PGPR (plant growth promoting rhizobacteria). Los mecanismos para promover el crecimiento más comunes son fijación de nitrógeno y fósforo, incremento en el radio de la raíz e interacción con otros microorganismos. La clase de bacterias varía significativamente según el tipo de suelo y condiciones ambientales. Para la selección bacterias a partir de microorganismos previamente aislados y caracterizados, se tomó en cuenta la cantidad de fósforo que pueden solubilizar además de realizar confrontaciones entre hongos y bacterias. De esto se desprende que los aislados denominados H3 y B2 fueron los que tuvieron mejor comportamiento. Para la selección de las productoras de ácido indol acético se registraron concentraciones en donde los hongos denominados H1 y H3 fueron los que mostraron mayor cantidad de dicho componente así como el aislado bacteriano B4. Considerando los resultados antes descritos, se concluye que los aislados microbianos tienen alto potencial de promover el crecimiento, ya que en los tratamientos de confrontación y solubilizadores hubo un aumento importante en el crecimiento de raíz y número de hojas.

INTRODUCCIÓN

El Cerro del Cubilete es una de las elevaciones más sobresalientes en el paisaje fisiográfico, alcanza una altura de 2,580 metros sobre el nivel del mar y es de gran importancia para el turismo. Presenta relictos de formaciones vegetales, como son los bosques templados de latifoliadas, que tienen como especie dominante al *Quercus rugosa* y otros encinos como: *Q. obtusata*, *Q. mexicana*, *Q. crassifolia*, *Q. castanea*, *Q. laurina* y *Q. grises* y cuenta con varios arroyos como el Sauce, Agua Zarca y el Sabino, entre otros. También se registra el tepame (*Acacia pennatula*) y el varaduz (*Eysenhardtia polystachya*), así como más de 17 especies arbustivas y más de 25 especies herbáceas (Cotton, 2005). La aún importante diversidad de especies de plantas que se desarrollan en la zona, lo hace una fuente potencial para el aislamiento de microorganismos benéficos, ya que el éxito de su sobrevivencia depende de un adecuado aprovechamiento de los nutrientes del suelo y su asociación con microorganismos los cuales pueden actuar como mineralizadores, simbioses o promotores de crecimiento.

Los microorganismos promotores de crecimiento pueden estimular en las plantas y/o producir fitohormonas. Las fitohormonas son moléculas de bajo peso molecular, se les ha llamado "Reguladores del Crecimiento Vegetal", estas sustancias actúan en diversos tejidos diana cumpliendo diferentes funciones fisiológicas, influyen en la división y diferenciación celular, dormancia y germinación de semillas, desarrollo de frutos y florecencia, actúan a concentraciones muy bajas y sus efectos varían de acuerdo a la interacción con otros reguladores. Se han descrito siete reguladores de crecimiento vegetal: auxinas, giberelinas, citoquininas, brasinosteroides, ácido abscísico, etileno y ácido jasmónico (Cheng-Hsiung, 2009).

Las preparaciones biológicamente activas en base a biomasa activa de microorganismos y su metabolismo, promotores de crecimiento vegetal y micro elementos son ampliamente usados en la actualidad para una intensificación del crecimiento vegetal (Fernández, 2005), (Ehrlich, 1990). Una gran cantidad de estudios confirman el interés y la importancia práctica de su aplicación. Uno de los trabajos más importantes es la generación y desarrollos de bioaditivos en base a un consorcio microbiano obtenido del suelo y reguladores de crecimiento vegetal con la aplicación para nuevos sistemas promotores de crecimiento (Ehrlich, 1990).

Además, el crecimiento y desarrollo de las plantas depende de la incorporación de varios elementos a sus procesos biológicos y estructuras siendo el fósforo es el segundo macronutriente más importante en el desarrollo y crecimiento de plantas y microorganismos, después de nitrógeno (Morales, 2012). Además, los mecanismos directos incluyen la liberación de fosfatos y micronutrientes, así como la fijación biológica de nitrógeno.

En diversos cultivos, la aplicación de PGPR en estadios tempranos de desarrollo ha incrementado la producción de la biomasa por un mayor crecimiento de raíces y tallos. En viveros de especies forestales, las PGPR han permitido incrementar la supervivencia de las plantas después del trasplante, lo que se ha asociado a un mejor

desarrollo de raíces y, en consecuencia, a un aumento de la captación de nutrientes (Corrales, 2014). Ensayos realizados con diversas PGPR en diferentes suelos, regiones climáticas y cultivos de importancia agronómica han demostrado entre un 5% a un 30% de incremento en el rendimiento (Fernández, 2005). En el presente trabajo se muestran la selección de cepas previamente aisladas, que presentan PGPR, ya que por sus cinéticas se deduce que con los tratamientos de confrontación y solubilizadores hay un cambio significativo en el crecimiento de las raíces y hojas.

TEORÍA

La disponibilidad de nutrientes para las plantas es un factor clave en la mejora de su rendimiento en cuanto a la producción de floración y frutos, pero se debe tener en cuenta que siempre debe existir un equilibrio de aporte nutricional, para que éstas puedan llevar a cabo estos procesos. La importancia de estudiar el fósforo, aparte de ser un elemento esencial en la composición de los suelos, se enfoca en la problemática como su baja disponibilidad, dificultando la obtención para las plantas, así como el impacto económico y ambiental negativo que genera (Vargas, 2012). La solubilización de distintas rocas fosfatadas y de otras fuentes de fósforo inorgánico por los microorganismos del suelo es una alternativa fundamental para incrementar la cantidad de nutriente disponible para las plantas (Fernández, 2005).

El nitrógeno es otros de los macronutrientes importantes para el desarrollo de las plantas, encontrándose disponible en aire y suelo, siendo en el aire menos disponible que en el suelo. El nitrógeno es uno de los nutrientes más importantes para el desarrollo vegetal. Es constituyente de bloques de construcción en todas las estructuras de las plantas. Siendo un componente esencial en la clorofila, enzimas, proteínas, etc. Estimula el crecimiento de raíces junto al fósforo, teniendo la mayoría de las plantas una respuesta rápida a la aplicación de nitrógeno (Goldstein, 1995).

PARTE EXPERIMENTAL

Las diferentes cepas utilizadas se aislaron y caracterizaron previamente con tinciones de Gram. Para los hongos se llevaron a cabo microcultivos los cuales se incubaron a 30-35°C por 5 días. Se realizaron dinámicas de crecimiento microbiano midiendo la DO (densidad óptica) en espectrofotómetro a una longitud de onda de 590 nm. Adicional a la DO se realizó recuento celular en cámara de Neubauer para cuantificación directa. Para el cultivo se usó el medio N-Brip modificado con (AlPO₄) como fuente de fósforo o medio Pirovskaya conteniendo 5grs AlPO₄, 0.5grs ((NH₄)₂SO₄), 0.2grs NaCl, 0.1grs MgSO₄·7H₂O, 0.2grs KCl, 10grs glucosa, 0.5grs extracto de levadura en 1000mL de agua para auxinas, usado como método indirecto.

En base a los resultados obtenidos en la tinción de Gram se utilizó el manual Bergey's para analizar las pruebas bioquímicas correspondientes, entre las pruebas que se realizaron son citrato, Indol, BHI, TSI, LIA, oxidasa y catalasa.

Determinación cuantitativa de fósforo soluble: La determinación cuantitativa de fósforo solubilizado se llevó a cabo por medio del ácido ascórbico, tratando el material de cristalería con una solución de HCl al 5% para eliminar posible contaminación con fósforo. Se utilizaron diferentes soluciones como ácido sulfúrico (H₂SO₄: 5N), Solución de tartrato de antimonio y potasio (C₄H₄KO₇Sb), Solución de heptamolibdato de amonio [(NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O], Solución de ácido ascórbico (C₆H₈O₆: 0.1M), Solución stock de fosfato preparada disolviendo 0.2195 gramos de fosfato de potasio dibásico y diluyendo a 1000mL con 50µl de cloroformo.

Determinación de ácido indol acético producido: Para la determinación de ácido Indol-acético se realizó por el método del reactivo de Salkowsky. Se preparó el medio el cual contiene piloncillo, cloruro de potasio (KCl), fosfato de calcio tribásico (Ca₃(PO₄)₂) y usando como precursor triptófano, este medio se inoculó e incubó a 30°C por un periodo de 6 días. El medio fue centrifugado por 5 minutos. Se tomó 1 mL de medio sin células y se mezcló con 2 mL de reactivo de Salkowsky. Después de 30 minutos se midió la absorbancia en espectrofotómetro a una longitud de onda de 530 nm.

Las cinéticas de crecimiento microbiano se realizaron en el medio N-Brip por dos técnicas como lo son absorbancia de luz y recuento en cámara de Neubauer por un tiempo de 24 horas con toma de lectura cada hora, esto en cuestión de bacterias. De acuerdo a los valores obtenidos en las cinéticas bacterianas se puede considerar que cerca de la hora 17 comienza la fase de muerte celular. Las cinéticas para hongo al igual que para bacterias fueron realizadas en un medio con una fuente de fósforo insoluble por un periodo de 7 días.

Se realizó un ensayo en invernadero con plantas de rábano, para el cual se utilizó un análisis estadístico en el que se usaron tres tratamientos los cuales fueron: la mejor interacción sinérgica (M1), los mejores solubilizadores (M2) y el control (M3). La aspersión se realizó en la raíz de la planta de rábano.

RESULTADOS

Se aislaron varias cepas del suelo del Área Natural Protegida “Cerro del Cubilete”, de las cuales sólo se seleccionaron seis, tres hongos y tres bacterias. Éstos aislados fueron nombrados como B2, B3, B4, H1, H2 y H3. Para el aislamiento se utilizó el método de vertido en placa el cual permitió la selección de las cepas en medio N-Brip.

El hecho de que las cepas pudieron crecer en el medio, demuestra la habilidad que poseen para aprovechar una fuente de fósforo insoluble o para tolerar la carencia de fósforo. En las cepas bacterianas, a nivel microscópico los cocos fueron la morfología más común, aunque se presentó un cocobacilo. En cuanto al tipo de pared, todas resultaron ser Gram negativas.

En relación con las pruebas de sinergismo, primero fueron realizadas en placas de Petri para observar compatibilidad en el crecimiento, de las cuales resultaron 9 interacciones exitosas entre hongos y bacterias como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Sinergismo exitoso en la solubilización de fósforo entre hongos y bacterias.

*Disminución de la solubilización con las interacciones B2-B4 y H2-B2 a los 9 días de incubación.

Concentración (ppm)	B2-B3	B2-B4	B4-B3	H3-B2*	H1-B2	H1-B4	H2-B2	H2-H3	H2-B4
Con. 3 días	3.23	3.16	3.06	6.78*	8.71	7.73	6.72	7.13	7.19
Con. 6 días	7.70	8.18	3.50	9.24*	8.54	10.24	7.77	8.79	8.47
Con. 9 días	9.44	*4.07	9.38	12.41*	9.15	11.50	*3.56	10.35	8.67

Se puede observar que con todas las cepas es posible solubilizar el fósforo para volverlo más disponible para plantas, siendo la confrontación H3-B2 los que muestran mayor solubilidad del fósforo, aunque en general todas las interacciones microbianas solubilizan este elemento en una capacidad considerable. Por otro lado, se observó que todas las cepas fueron capaces de producir Ácido Indolacético en concentraciones variables, siendo los aislados B4, H1 y H3 los de mayor capacidad productora. En la Tabla 2 se puede observar la producción de ácido indol acético a 6 días de inoculados.

Tabla 2. Producción de ácido indol acético a 6 días.

Concentración (ppm)	B	2	B 3	B4 *	H1 *	H2	H3 *
Con 6 días	5.48		3.16	6.16 *	10.15 *	8.13	14.23 *

Se puede observar que los hongos H1 y H3 son los que muestran mayor cantidad producida de ácido Indol acético. Siendo en el caso de las bacterias la cepa B4 la que muestra mayor producción de esta fitohormona.

En la Figura 1 se presentan los resultados del ensayo en invernadero con plantas de rábano, el cual mostró que un cambio significativo de los tratamientos M1 y M2 en comparación con el control. En base al tamaño de raíz se observó un mayor crecimiento en los tratamientos M1 y el control M3 en cuestión del tratamiento M2.

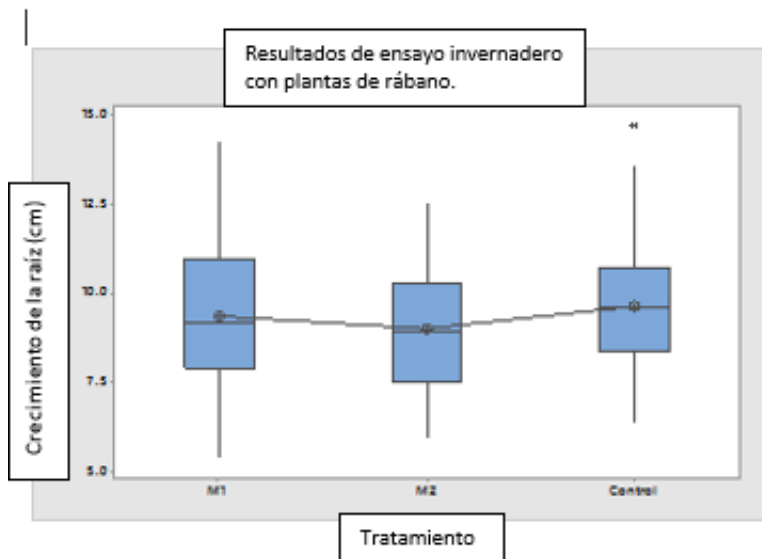


Figura 1. Gráfico de tratamiento en base al tamaño de la raíz en base a plantas de rábano.

CONCLUSIONES

Se comprobó que las cepas utilizadas tienen buena capacidad de solubilización de fósforo. También se observó que las cepas bacterianas solubilizan una mayor cantidad cuando están en interacción con un hongo solubilizador. El conocimiento de estas bacterias aisladas de un área natural protegida representa un potencial para su empleo en programas de producción de plantas, cuyo objetivo sea la mejora de zonas con escasas de cobertura forestal. La identificación de estas bacterias seleccionadas y su aplicación en tratamientos directamente en suelo, permitirá avanzar en el estudio de las mismas como potenciales herramientas de inoculación en los suelos deficientes en fósforo asimilable. Los valores obtenidos en el estudio representan un antecedente importante para ayudar a futuras investigaciones enfocadas en la producción de ácidos orgánicos en la solubilización, hidrólisis y búsqueda de componentes como fitohormonas, así como el mecanismo que usan estos microorganismos para solubilizar el fósforo al exhibir la presencia de halos de solubilización.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cheng-Hsiung C, Shang-Shyng Y.(2009).Thermo-tolerant phosphate-solubilizing microbes for multi-functional biofertilizerpreparation. *Bioresour Technol*;(4):1648-58.
2. Corrales Ramírez Lucía Constanza. (2014). Solubilización de fosfatos: una función microbiana importante en el desarrollo vegetal. *Nova publicaciones científicas* vol. 12 núm. 21. Colombia
3. Cotton F.A. y Wilkinson G. (2005). *Basic Inorganic Chemistry*. John Wiley and Sons. New York.
4. Ehrlich, H.L., 1990. Mikrobiologische and biochemische Verfahrenstechnik. In: Einsele, A., Finn, R.K., Samhaber, W. (Eds.), *Geomicrobiology*, 2nd ed. VCH, Verlagsgesellschaft, Weinheim.
5. Fernández Maria Teresa. (2005). El papel de la solubilización del fósforo en los biofertilizantes microbianos. *ICIDCA* .Vol.39. Núm.3. Cuba.
6. Goldstein, A.H., 1995. Recent progress in understanding the molecular genetics and biochemistry of calcium phosphate solubilization by Gram-negative bacteria. *Biological Agriculture and Horticulture* 12,185–193.
7. Morales Torres Claudio. (2012). Aislamiento y caracterización de fosfobacterias. (Tesis de licenciatura). Universidad Autónoma de Querétaro, México.
8. Lauzardo, Ana Niurka Hernández, Baños, Silvia Bautista, Velázquez-del Valle, Miguel Gerardo, Rodríguez, Annia Hernández. Uso de Microorganismos Antagonistas en el Control de Enfermedades Postcosecha en Frutos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, vol. 25, núm. 1, pp. 66-74, enero-junio, 2007.
9. Vargas Ramírez Silvia. (2012). Microorganismos solubilizadores de fosfato en suelos. (Monografía para especialización en química ambiental). Universidad Industrial de Santander, Facultad de ciencias, Bucaramanga.

LA ESTIMULACIÓN SEXUAL DE MACHOS HÁMSTER, NO AUMENTÓ LA DENSIDAD ESPERMÁTICA EPIDIDIMARIA, PERO SI LA CONCENTRACIÓN

Ricardo Martínez Acevedo, Julia Estrella González García,
María del Carmen Navarro Maldonado, Alfredo Trejo Córdova y Demetrio Ambriz García

Licenciatura en Biología.

Departamento de Biología de la Reproducción. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa. Ciudad de México. deme@xanum.uam.mx

RESUMEN

La estimulación sexual de los machos hámster con hembras receptoras, genera una serie de respuestas que les permiten tener una mejor interacción sexual. La hormona oxitocina es responsable de la agudeza de los sentidos y la contracción de la musculatura lisa de órganos como los epidídimos, donde están las reservas espermáticas que se depositarán en la hembra. El presente trabajo se realizó con la finalidad de conocer si la estimulación con hembras receptoras a machos hámster podría aumentar la cuenta espermática y la relación de espermatozoides por gramo de testículo y epidídimo. Se utilizaron 26 machos de 130 ± 17 g de peso y 9 meses de edad, sin experiencia sexual. Fueron mantenidos en grupo desde el destete (21 días de edad) en condiciones de bioterio. A un grupo de ellos ($n=14$) les fueron colocadas hembras receptoras durante 10 minutos (estimulados, E), al otro grupo ($n=12$) no se les colocó (no estimulado, NE). Inmediatamente se sacrificaron. Se diseccionaron y pesaron los testículos y epidídimos. Se recuperaron los espermatozoides de la cola de epidídimo y evaluó su movilidad, conteo y calculó la relación de éstos con el testículo/epidídimo. El peso promedio de testículo y epidídimo fue de 3.38, 3.48g y 0.67, 0.77g para los grupos E y NE. La densidad espermática en cola de epidídimo fue de 441 y 535×10^6 respectivamente ($p > 0.05$) y la relación entre este valor y el peso testículo/epidídimo (concentración) fue de 4.85 y 4.37 ($p < 0.05$) respectivamente, lo que indica que el grupo estimulado tuvo una mayor concentración de espermatozoides. Se concluye que la estimulación sexual de machos en grupo con hembras receptoras, no aumentó la densidad (cuenta) espermática epididimaria, pero sí la concentración (relación espermatozoides con el peso testículo/epidídimo).

INTRODUCCIÓN

La interacción sexual en mamíferos lleva implícito muchas señales y respuestas de ambos miembros de la pareja. La proximidad de una hembra receptiva presenta una variedad de estímulos que desencadenan una respuesta decisiva en el macho para, en su caso, la ocurrencia de la cópula y el depósito seminal en el interior del aparato reproductor femenino (Figura 1) (Hafez, 2000). La hembra posee varios estímulos importantes para interactuar con el macho que variarán de acuerdo a la especie en que se trate. La hembra hámster es por naturaleza solitaria, no gusta de formar poblaciones numerosas e incluso tiende a vivir apartada. En su zona natural de distribución la hembra hámster solo tiene contacto con otros individuos durante el apareamiento y la lactancia. De este modo las señales de atracción para el macho en tránsito deben de ser intensas y bien definidas. Una de ellas es conocida como la secreción vaginal postovulatoria, que es abundante, visible y altamente aromática (Gutiérrez *et al.*, 2015). Ésta comienza a exteriorizarse poco antes de la ovulación, momento en que la hembra por la inquietud propia del estro sale continuamente de su madriguera y tiende a liberar parte de esta secreción desde sus genitales impregnando con ella el piso de los alrededores. Esta secreción además de atraer al macho, sirve también como importante estímulo sexual. Ya en contacto el macho con la hembra, otros estímulos siguen interviniendo en esta cercana convivencia como los táctiles, olfatorios, auditivos y visuales, aunque en roedores se señala que los más relevantes son los ocasionados por la secreción vaginal por la vía olfativa (Portillo y Paredes, 1998).

Las claves ferohormonales relevantes para la conducta reproductiva son detectadas por receptores del órgano vomeronasal, que transmite la información hacia el bulbo olfatorio accesorio quien proyecta a los núcleos anteromedial y posteriocortical de la amígdala al núcleo de la cama de la estría terminal. Parte de las conexiones derivadas van al núcleo amigdaloides posterior y al área preóptica media del hipotálamo anterior (Portillo y Paredes, 1998), esta última forma bastas conexiones neuronales con grandes regiones cerebrales y se ha relacionado con funciones como la regulación de secreción de gonadotropinas, prolactina, termorregulación, sed

hipovolémica así como el control de la conducta materna y sexual, todos ellos relacionados a su vez con conductas motivacionales y de ejecución como parte de la conducta sexual masculina. Poco antes de la cópula y durante ésta, puede ocurrir una liberación importante de testosterona así como de oxitocina, que pueden modificar la conducta de apareamiento, así como las características seminales.



Figura 1 Apareamiento en hámster.

Tomado de: <http://hamstercitosblog2.blogspot.mx/2012/02/apareamiento-y-sus-precauciones.html>

MATERIAL Y MÉTODO

Para este trabajo se utilizaron 26 hámster macho Sirio Dorado (*Mesocricetus auratus*) con un peso promedio de $130g \pm 17.61$ y de 9 meses de edad, también se utilizaron 3 hembras de 3 meses de edad, con secreción vaginal postovulatoria en receptividad sexual. Los animales se encontraban en condiciones de bioterio con alimento en pellets (marca Abene) con agua fresca y limpia a libertad. Fueron mantenidos en cajas de acrílico de dimensiones 45cm de largo, 29cm de ancho y 20cm de alto, cubiertas con una rejilla de metal y contaron con cama de viruta estéril. Se mantuvieron a temperatura ambiente de 21 °C, humedad de 55%, y fotoperiodo de 14 horas luz (4am-4 pm)/10 hr de oscuridad. Los machos permanecieron en grupos (7 por caja) desde el destete (21 días de edad) y sin interacción sexual. El día del experimento, de cada caja se retiraron por azar 3 machos (NE) y a los otros 4 (E) se les colocó la hembra receptiva durante 10 minutos

En el bioterio para la obtención de epidídimo se procedió a sacrificar los machos por dislocación cervical, se realizó la disección utilizando tijeras de disección de punta roma y pinzas. Se retiraron los testículos con epidídimos, se colocaron en una caja de Petri sobre hielo frappé. En el laboratorio se separaron los epidídimos de los testículos. Se pesaron en una balanza digital. En una caja plástica NUNC de cuatro pozos se colocó la cola del epidídimo y se cortó finamente con tijera recta de punta fina, y agregó 1mL de medio TCM199. Este macerado se filtró en malla nylon licra para recuperar los espermatozoides en un tubo Ependorff. Para evaluar la movilidad masal se colocaron 5 μ l de la muestra espermática sobre un portaobjetos limpio y atemperado y se observó de inmediato al microscopio de luz en aumento de 20X, evaluando de manera subjetiva con valores en múltiplos de 5. Para evaluar la movilidad individual, se colocaron 5 μ l de la muestra espermática sobre un portaobjetos atemperado y se colocó una gota de 5 μ l de medio TCM199 con una separación de 2 a 4 mm a la gota de la muestra. Con ayuda de una aguja calibre 29, se hizo un corrimiento desde la gota con espermatozoides hacia la del medio (dilución arbitraria) y se colocó bajo el microscopio óptico a 20X para contar de manera diferenciada, los espermatozoides que se movían de los que no lo hacían. Para determinar la viabilidad se colocaron 5 μ l de la muestra espermática a la orilla de un portaobjetos limpio y atemperado, así como 5 μ l de solución de Eosina (1%) Nigrosina (5%), se homogenizaron con ayuda de una aguja y con otro portaobjetos limpio se hizo un frotis, el cual fue fijado al calor de la flama del mechero y en el microscopio de luz a 20X, se contaron 200 espermatozoides, diferenciando vivos (claros) de muertos (oscuros) y determinando el porcentaje de cada categoría. Para la determinación de la densidad espermática se usó una dilución 1:200 en una pipeta de Thoma, se llenaron las cámaras del hematocitómetro. Bajo el microscopio de luz a aumento de 20X se hizo el conteo para determinar en millones de células espermáticas por mililitro (Zhaojing *et al.*, 2013).

Para determinar el grado de concentración espermática se calculó el número de espermatozoides por gr de testículo y se relacionó con los obtenidos por gr de epidídimo. Los resultados fueron analizados por la prueba T-Student, utilizando el paquete NCSS, con niveles de significancia de 0.05.

RESULTADOS

Los machos utilizados en este experimento no habían tenido interacción sexual previa con hembras. Cuando se colocó a la hembra estímulo, los machos Estimulados (E), respondieron intensamente, persiguiendo las marcas aromáticas de la hembra, dejadas sobre la cama de viruta de la caja. Además se evidenció un seguimiento masivo de los machos hacia la hembra. Ésta intentó huir apresuradamente, dejando mas marcas aromáticas sobre la cama, e incluso en las paredes de la caja. En ocasiones los machos atendieron más a las marcas aromáticas que a la presencia de la hembra.

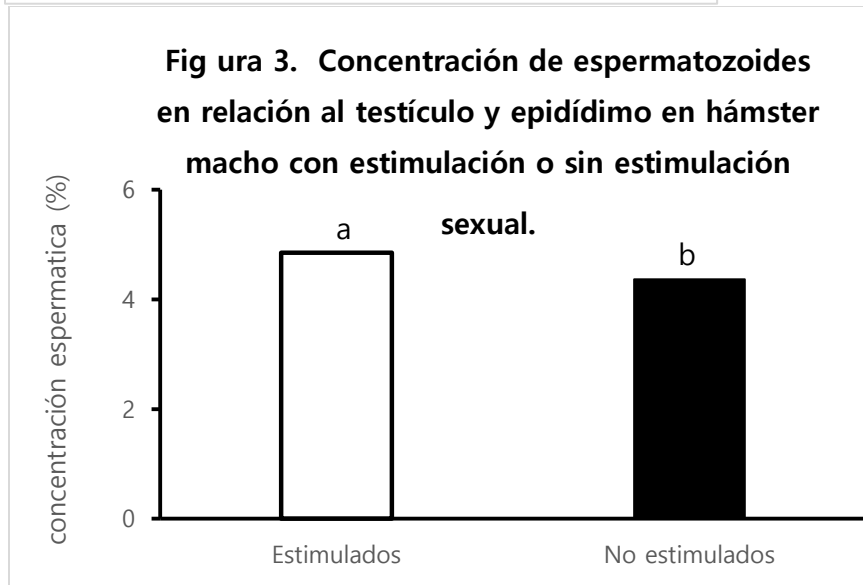
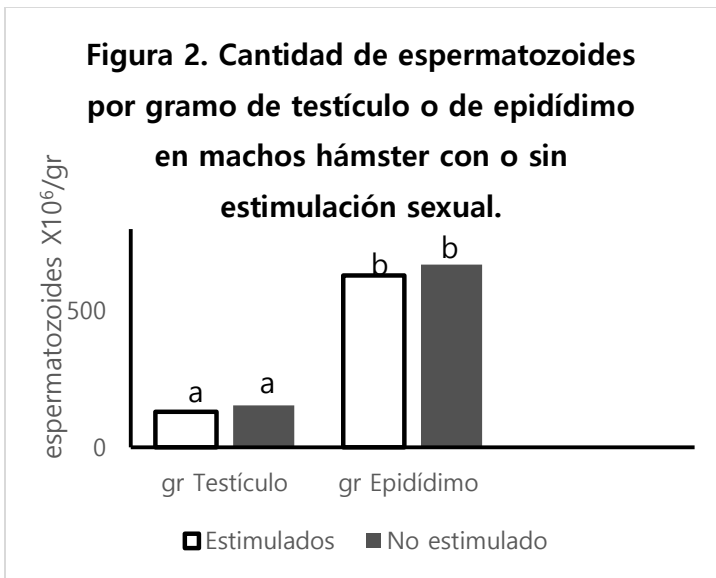
El peso corporal, de testículos y epidídimos fue similar entre machos Estimulados y No Estimulados (Figura 1). En el conteo espermático o densidad de cola de epidídimo, fue mayor para los No Estimulados aunque sin mostrar diferencia estadística significativa (535 y 441x10⁶, P>0.05).

Se encontró que los machos no estimulados tuvieron mayor número de espermatozoides por gramo de testículo y de epidídimo (Figura 2) sin mostrar diferencias significativas con los machos estimulados (P>0.05). En relación a la densidad espermática que fue considerada como la relación entre la concentración espermática por gramo de epidídimo con respecto al testículo, se encontró que para los machos hámster E, fue de 4.85% en comparación con los NE que fue de la 4.37% mostrando entre ambos diferencia significativa (T-Student, P<0.05). La diferencia entre grupos corresponde a un 10 por ciento del valor obtenido para el grupo Estimulado.

Tabla 1 Peso corporal, testículos y epidídimos, su relación y densidad de espermatozoides en machos hámster Estimulados y no Estimulados por presencia de hembra receptiva.

	Corporal	testículos	epidídimos	Índice gonadal	Índice epididimario	Densidad espermática x10 ⁶
♂ (E)	128±19.1	3.38	0.67	0.0264	0.0052	441 ^a
♂ (NE)	131±16.4	3.48	0.77	0.0266	0.0059	535 ^a

a Misma literal en columna denota no diferencias significativas por la prueba T-Student (P>0.05)



DISCUSIÓN

En especies de roedores incluyendo al hámster Sirio dorado el comportamiento reproductivo depende en gran medida en la percepción de los olores sexuales, así los hámster macho son atraídos por los olores emitidos por las secreciones vaginales de la hembra, las cuales son una serie de compuestos químicos que estimulan la expresión de comportamiento en la cópula (Portillo y Paredes, 1998). En el presente trabajo resultó evidente que los machos E a pesar de no tener experiencia sexual respondieron con gran interés a la presencia de la hembra y más aún, a sus secreciones dado que por momentos, dicha secreción les interesó más que la propia hembra. También denotó que a pesar de la edad de los machos y que durante ésta, no hubo experiencia de interacción sexual con alguna hembra, de manera que el estímulo aquí proporcionado por la hembra y sus secreciones, activó de manera inmediata el interés del macho y el despliegue de su conducta por establecer la cópula, lo cual posibilita la liberación y acción inmediata de mediadores involucrados como las hormonas testosterona y oxitocina (Jiménez--Anguiano *et al.*, 2003) que desencadenarían un efecto inmediato en relación a órganos genitales externos e internos lo que posibilita cambios en la composición y la calidad seminal. En el hámster esta comunicación de interacción sexual mediada por olores, es en especial importante si consideramos que esta especie no forma colonias de convivencia íntima, y que la mayor parte del tiempo permanecen dentro de

madrigueras, ante esto las señales emitidas por las hembras son de gran relevancia para la atracción y estimulación de los machos para la cópula. Uno de los principales objetivos periféricos de la oxitocina es el tejido eréctil; es decir, el cuerpo esponjoso y el cavernoso peneano, se cree que la oxitocina puede estar asociada con el número de espermatozoides y la contracción de tejidos eyaculatorios, sobre todo la uretra prostática, el cuello de la vejiga y el conducto eyaculatorio. Un interesante estudio hecho en humanos, demostró que la oxitocina estimula plenamente la eyaculación y ello está mediado específicamente por los receptores de vasopresina V1a (López-Ramírez *et al* 2014) Por otro lado, se sabe que el hámster es un animal de comportamiento copulatorio intenso, de manera que presenta de 8 a 12 series copulatorias completas en tan solo 40 minutos, además que el patrón en la copula de machos hámster es sustancialmente diferente en comparación con otros roedores pues la velocidad de monta, intromisión y eyaculación es más rápida que en ratas, presentando incluso 10 eyaculaciones en 30 minutos (Jiménez-Anguiano *et al* 2003). Esto reafirma que el hámster puede ser rápidamente estimulado sexualmente.

Los machos hámster que fueron estimulados (E) por la presencia de una hembra receptiva durante 10 minutos así como sus secreciones vaginales, posiblemente por estar en un periodo de abstinencia prolongada y la corta duración del estímulo, no aumentaron la densidad espermática en la cola del epidídimo, siendo similar a la que tuvieron los animales que no fueron estimulados (NE). En relación al índice gonadal aquí encontrado tanto para machos estimulados y no estimulados (0.0272 y 0.0266) fueron similares a los reportados en 2015 por González *et al.*, con 0.028. Así también el tamaño testicular fue similar con dichos autores. En relación a la densidad espermática de cola de epidídimo lo encontrado en el presente trabajo es inferior a los reportado por González *et al.*, en 2015 con cuentas espermáticas de 1032 a 1292 x10⁶ lo cual puede atribuirse a la mayor edad de los animales aquí empleados (9 vs 6 meses) y además que durante ese tiempo estuvieron en grupo sin interacción sexual con hembras receptivas. A pesar de no haber diferencias significativas entre la densidad espermática de los machos no estimulados y los estimulados, es evidente que los primeros tuvieron una tendencia a mostrar mayor número de espermatozoides (535 vs 441x10⁶ respectivamente, P>0.05).

La relación entre espermatozoides por gramo de epidídimo, en relación al número de espermatozoides por gramo de testículo (concentración) fue diferente entre grupos, el grupo E tuvo una relación de 4.85, en tanto que el NE de 4.37, mostrando entre ambos diferencia significativa (p<0.05), es posible que esto refleje el efecto de la oxitocina sobre el tracto reproductor en una acción de concentración espermática mediada por absorción de líquidos, que deberá ser mas estudiada.

CONCLUSIÓN

La estimulación sexual con hembras receptivas de machos Hámster Sirio Dorado adultos mantenidos en grupo no provocó el aumentó en la densidad espermática en la cola del epidídimo, pero si aumentó la concentración espermática (relación espermatozoides por gramo de epidídimo/espermatozoides por gramo de testículo).

BIBLIOGRAFÍA

1. E. González, N Flores, JL. Contreras, A Salame, MC Navarro, A Trejo y D Ambriz Concentración espermática en hámster Sirio Dorado con enriquecimiento ambiente. XII Encuentro Mujer en la Ciencias.2015
2. A. Gutiérrez, N Flores, JL: Contreras, M Navarro, A. Trejo y D. Ambriz El macho hámster sirio dorado prefiere para el apareamiento a hembras jóvenes. XII Encuentro de la mujer en las Ciencias. 2015.
3. E. Hafez y B.Hafez. Reproducción e Inseminación Artificial Ed Interamericana. 2000.
4. A. Jiménez, M Arteaga-Silva y J. Velázquez-Moctezuma. Masculine sexual activity affects slow wave sleep in Golden hamsters. Brain Research Bulletin, Vol. 59, No. 6, 2003 pp. 429-432
5. C. López-Ramírez, J. Arámbula-Almanza y E. Camarena-Pulido. Oxitocina, la hormona que todos utilizan y que pocos conocen. Ginecol Obstet Mex, Vol 82 2014, pp 472-482.
6. M. Maras. A. Pamela y A. Petrusis. The posteromedial cortical amygdala regulates copulatory behaviour, but not sexual odor preference, in the male Syrian hamster (*Mesocricetus auratus*). Neuroscience Vol 156, No 3, 2008, pp 425-435.
7. W. Portillo y R. Paredes Control Neural de la Conducta sexual masculina. En. Biología de la Reproducción Ed Javier Velázquez 1998 pp 335-364
8. L. Zhaojing, W. Shaolin, S. Zilong, N. Ruiyan, W Jundong. In vivo influence of sodium fluoride on sperm chemotaxis in male mice. Arch Toxicol Vol 88 2014, pp 533-539

LACTANCIA COLECTIVA EN HÁMSTER: SISTEMA DE CRIANZA ALTERNATIVO

Guadalupe Ramírez Merchante, Alfredo Trejo Córdova,
María del Carmen Navarro Maldonado y Demetrio Ambriz García.

Licenciatura en Biología.

Departamento de Biología de la Reproducción. División de Ciencias Biológicas y de la Salud Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. deme@xanum.uam.mx

RESUMEN

En condiciones naturales el hámster Sirio Dorado vive aislado. Los individuos interactúan ocasionalmente como pareja durante el apareamiento y como camada en la lactancia. En los bioterios se aplican sistemas de crianza de ratones y ratas con los hámsteres por desconocimiento y conveniencia, resultando en problemas como estrés social y canibalismo. La finalidad del presente trabajo fue estudiar aspectos de la lactancia colectiva en el hámster. Se utilizaron 6 hembras primíparas de ocho meses de edad y 123 ± 5 grs de peso. Permanecieron a 26°C , 14 horas luz/10 oscuridad y fueron alimentadas *ad-libitum* con nutricubos y agua. En la tarde del proestro fueron apareadas con machos de fertilidad comprobada. Se colocaron 3 hembras por caja jumbo (30cm x 40cm). Una caja tenía 3 compartimentos individuales y un área común (ED) y la otra caja todo el espacio fue compartido (EC). En el primer parto la prolificidad promedio fue 9.6 y 9 crías en caja ED y EC, respectivamente. En la caja ED cada hembra aceptó al total de las crías nacidas, moviéndolas hacia un compartimento de la caja y defendiéndolas de las demás hembras. En la caja EC las hembras permanecieron cercanas sobre las crías. En ambas cajas las crías fueron reunidas en un solo nido. Hacia el día 9 no se encontraron crías. En el segundo parto la prolificidad promedio fue 9 crías para ambas cajas (27 crías en total para cada caja). De nuevo mostraron la conducta descrita. Para el día 9, se encontraron 13 y 6 crías respectivamente. Al día 21 (destete) hubo 2 (8%) y 1 cría (4%). Se concluye que el proporcionar compartimentos permitió obtener mayor número de crías destetadas y que hay mayor habituación conforme más partos y lactancia colectiva.

INTRODUCCIÓN

En vida silvestre, tanto el macho como la hembra hámster Sirio Dorado (*Mesocricetus auratus*) se encuentran aislados e interactúan durante el apareamiento y con las crías en la lactancia (Gattermann *et al.*, 2001). La hembra hámster presenta una conducta materna postparto que incluye la elaboración del nido, limpieza y alimentación de las crías. Otra conducta postparto que se observa en las hembras hámster es la agresión materna, comportamiento que puede terminar en canibalismo de la totalidad de las crías (Wise, 1974). La conducta materna en el hámster se lleva a cabo en dos fases: una fase inicial que ocurre poco antes del parto y es dependiente de las condiciones fisiológicas y una fase de mantenimiento la cual proporciona una continuación del cuidado materno durante la lactación y es dependiente de factores internos maternos y estímulos externos o relacionados con la camada (Siegel y Rosenblatt, 1980). Los factores internos maternos incluyen la duración de la lactancia y la aceptación de crías extrañas o ajenas. Por otra parte, en los bioterios se aplican sistemas de crianza definidos para ratones y ratas, con los hámsteres por desconocimiento de las particularidades del hámster y conveniencias de manejo uniforme, ahorro de cajas, cama y mano de obra, resultando con ello problemas en la crianza del hámster tales como estrés social (Chelini *et al.*, 2011) y canibalismo (Gattermann y Weinandy, 1996). Chelini *et al.* (2011) reportaron el establecimiento de una jerarquía social en hámsteres alojados en grupo, así como una supresión de la reproducción, incluida la reducción del tamaño de la camada y el porcentaje de crías machos nacidos de hembras subordinadas. En cuanto al canibalismo, es una conducta que ocurre principalmente durante los primeros 5-6 días después del parto (Wise, 1974) y que es realizada por el 75% de las hembras (Day, 1976). Algunos factores relacionados con el canibalismo de las crías son: la perturbación de la hembra después del parto (Summer, 1972), un exceso en el número de crías o tamaño de la camada (Silvan, 1966), la experiencia reproductiva de la hembra (hembras nulíparas son más propensas a esta actividad), la disponibilidad de fuentes energéticas; un mayor aporte de energía metabolizable en la dieta disminuye el canibalismo (Schneider y Wade, 1989), los niveles hormonales también han sido relacionados con la conducta de agresión por parte de la madre hacia las crías. Wise y Pryor (1977) determinaron que la prolactina estaba relacionada con la conducta de agresión de la hembra hámster. La finalidad del presente trabajo fue estudiar aspectos de lactancia colectiva en hámster y observar sus efectos en la conducta materna postparto.

METODOLOGIA

Animales

Se utilizaron seis hembras nulíparas hámster Sirio Dorado (*Mesocricetus auratus*) con una edad promedio de ocho meses y 123 ± 5.3 gramos de peso. Todas las hembras mostraron regularidad en la duración de los ciclos estrales, demostrada por citología vaginal exfoliativa efectuada durante 15 días continuos y posteriormente con la observación de la secreción vaginal postovulatoria en el día del estro (Magalhaes, 1970). También se utilizaron 3 machos de un año de edad de fertilidad comprobada y de 102 ± 8.3 gramos de peso.

Alojamiento

Para las hembras se utilizaron dos cajas de acrílico tamaño jumbo (30cm x 40cm) equipadas con tapa (reja metálica), bebederos de vidrio y cama de viruta. Los animales fueron mantenidos en un ambiente controlado a 26 °C, fotoperiodo de 14 horas luz por 10 de oscuridad y alimentados *ad-libitum* con nutricubos Abene y agua. El alimento y el agua fueron colocados en uno de los extremos de la parte superior de la tapa de la caja. Los machos estuvieron en cajas individuales (24cm x 34cm x 15cm) y las hembras fueron llevadas a ellos cuando se encontraban en la tarde del proestro, para el apareamiento. A la mañana siguiente se tomó un frotis vaginal para evidenciar la presencia de espermatozoides, utilizando un microscopio óptico (10X).

Experimento

Para evaluar el comportamiento maternal durante los dos primeros partos se siguió la metodología propuesta por Swanson y Campbell (1979) con modificaciones en cuanto al ambiente (espacio compartido y espacio dividido). Las seis hembras fueron distribuidas en dos grupos (3 hembras/grupo/caja), en cada grupo se llevó a cabo el apareamiento, gestación, parto y lactancia correspondientes.

La caja 1 o EC (espacio compartido), no presentó ninguna división del espacio. Mientras que en la caja 2 o ED (espacio con divisiones), fueron colocadas dos paredes de madera (triplay) dentro de la caja sostenidas por la tapa, lo cual permitió que se dividiera en tres áreas, dejando un área común para acceso al alimento, agua e interacción social (Figura 1).



Figura 1. Vista superior de la caja de acrílico con tres divisiones.

Parto 1

En ambas cajas (EC y ED) las hembras fueron colocadas 5 días antes del parto para permitir la adaptación a su nuevo espacio. Durante el proceso de adaptación, antes del parto, postparto y durante la lactancia se siguió una observación continua de 30 minutos por la mañana y 30 minutos por la tarde en relación al comportamiento, para posteriormente analizar los datos obtenidos. Cuando ya no había crías (por canibalismo o destete a 21 días postparto) las hembras reposaron 7 días en los cuales se revisó su secreción vaginal postovulatoria y en la tarde del proestro se llevaron con el macho para apareamiento.

Parto 2

Las hembras que fueron alojadas en la caja EC (parto 1) fueron ahora colocadas en la caja ED durante el parto 2, y las hembras que fueron colocadas en la caja 2 (parto 1) fueron colocadas en la caja 1 durante el parto 2 (Figura 2). Es decir, se hizo rotación del ambiente subdividido o compartido.

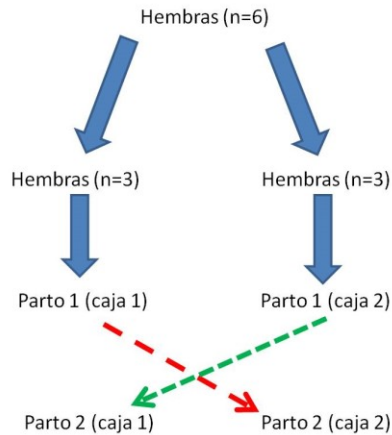


Figura 2. Rotación del ambiente durante el segundo parto.

RESULTADOS

Parto 1

Caja 1 (EC). Las hembras tuvieron un peso promedio de 128.6 ± 5.6 gramos, al igual que las otras hembras fueron apareadas durante el mismo día, de esta manera el parto se sincronizó para la misma fecha. Esta caja no contaba con ningún tipo de división, es decir que el espacio era totalmente compartido. El día 1 o día del parto, se contabilizaron 27 crías (promedio de 9 crías por camada), al día 6 se tenían 8 crías y al día 9 no había ninguna cría (Gráfica 1).

Caja 2 (ED, con tres subdivisiones, Figura 3). Las hembras tuvieron un peso promedio de 145.6 ± 4.3 grs. Fueron apareadas el mismo día para sincronizar los partos. Después de 15 días de gestación, las tres hembras presentaron el parto con un total de 29 crías y un promedio de 9.6 crías por camada. El día del parto correspondió al día 1 de las observaciones. Al día 6, quedaban 17 crías vivas y al día 9, ya no había ninguna cría (Gráfica 1).

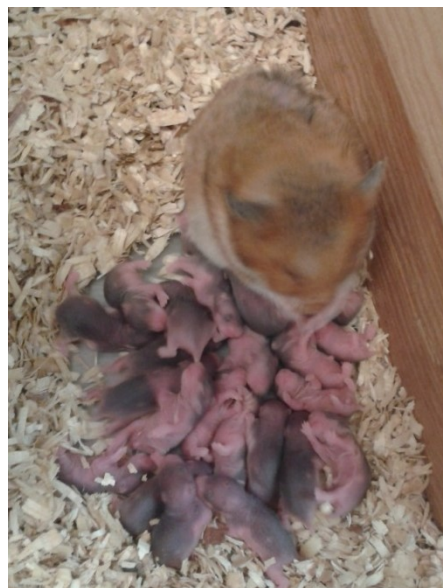
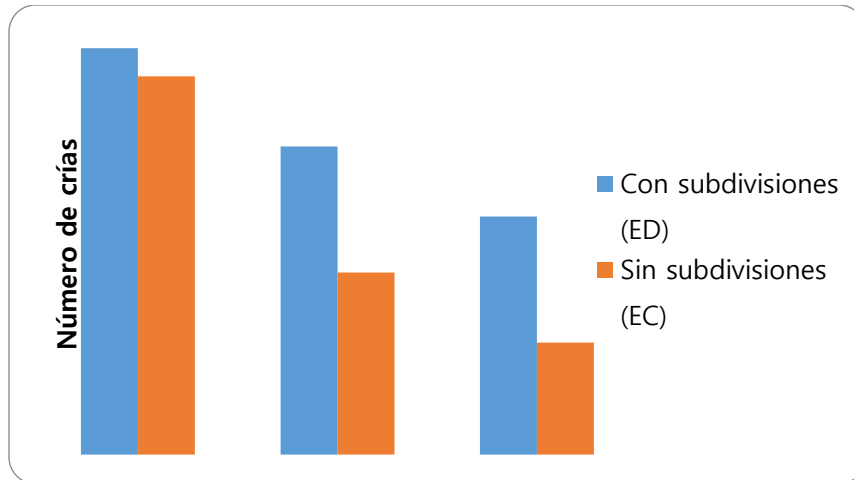


Figura 3. Cada hembra procuró tener a todas las crías.



Gráfica 1. Número de crías vivas durante el primer parto en cajas con separaciones y sin separaciones.

Parto 2

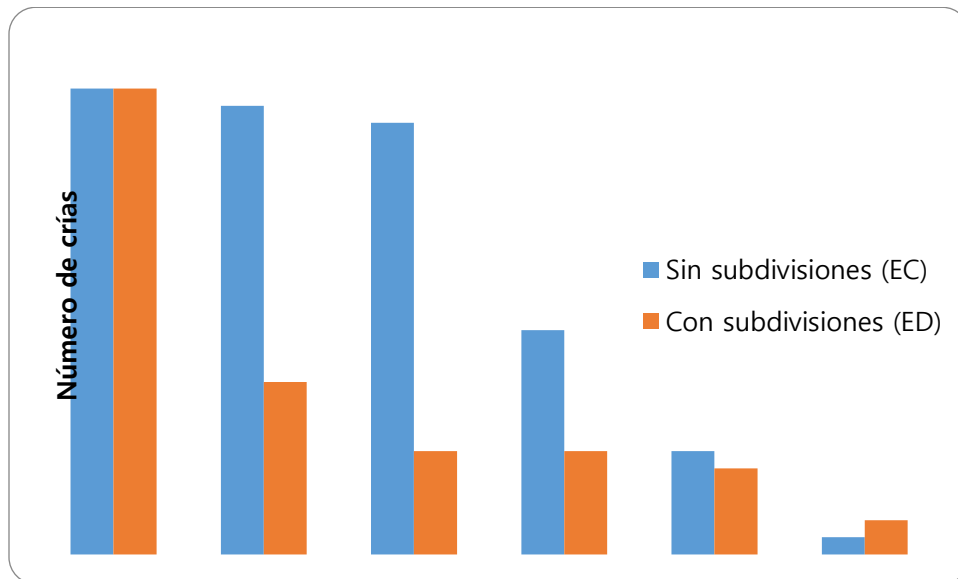
Al igual que en el parto 1, se realizó el manejo adecuado de las hembras para que el parto fuera sincronizado (todos los partos en el mismo día).

Caja 1 (EC)

Las hembras que en el experimento 1 fueron colocadas en caja con divisiones, para el segundo parto fueron colocadas en una caja sin divisiones. Al parto, se contabilizaron 27 crías, al día 9 quedaban 13 crías y al día 15 (destete) solo quedó 1 cría que permaneció hasta el destete (Gráfica 2).

Caja 2 (ED, con tres subdivisiones).

Las hembras que en el experimento 1 fueron colocadas en caja sin divisiones, para el segundo parto fueron colocadas en la caja con divisiones. Al parto, se contabilizaron 27 crías, al día 9 quedaban 6 crías y al día 15 quedaron 2 crías vivas que permanecieron hasta el destete (Gráfica 2).



Gráfica 2. Número de crías vivas durante el segundo parto en cajas con separaciones y sin separaciones.

DISCUSIÓN

Después del parto, la hembra hámster (*Mesocricetus auratus*) presenta un amplio repertorio de conductas maternas importantes para el crecimiento y protección de sus crías (Noirot, 1972). En adición a estas actividades

de cuidado, la hembra hámster exhibe un comportamiento que es poco frecuente en otras especies, tiende a consumir a algunas de sus crías (Magalhaes, 1968), especialmente bajo estados de tensión.

Cuando se mantienen hámsteres (machos o hembras) en grupos se forman jerarquías. Chelini *et al* (2011) establecieron que agrupar a las hembras 10 días antes del parto era suficiente para observar presencia de jerarquía entre las hembras. En el presente trabajo las hembras fueron colocadas en las cajas 5 días antes del parto, este tiempo fue suficiente para observar esta conducta ya que una hembra (posiblemente la dominante) de la caja 1 (sin subdivisiones) acaparó todas las crías.

La conducta de consumir a las crías se presenta principalmente durante los primeros 6 días postparto (Marques y Valenstein, 1976). Lo anterior coincide con lo observado en este trabajo, durante el primer parto en ambos grupos (hembras alojadas con cajas con y sin divisiones) al día 9 ya no se observaron crías (Gráfica 1). Entre los factores asociados con el canibalismo postparto están la experiencia de la hembra y la regulación del tamaño de la camada (Day y Bennet, 1977). En este trabajo se utilizaron hembras sin experiencia materna (nulíparas) por lo tanto, esta condición de las hembras podría explicar el canibalismo observado durante los primeros días postparto.

Guerra y Nunes (2001), establecieron que la conducta materna está relacionada con el tamaño de la camada, siendo 9 crías el tamaño óptimo. Durante el primer parto, se obtuvo un total de 29 y 27 crías (caja sin y con subdivisiones, respectivamente). Como se observó en ambos grupos, una hembra fue la que se encargó del cuidado de la totalidad de las crías, por lo tanto, se puede considerar una camada de 29 y 28 crías, respectivamente. De acuerdo a lo anterior, el canibalismo observado durante el primer parto coincide con lo reportado por Day y Bennett (1977) como una alternativa para regular el tamaño de la camada.

Con el segundo parto, se observó una disminución en la conducta de canibalismo en ambos grupos de hembras (Gráfica 2), al día 12 se tenían 5 crías en la caja 2 (con subdivisiones) y 6 crías en la caja 1 (subdividida). Se destetaron 2 crías (7.4% de las nacidas) en la caja 2 y 1 cría (3.7%) en la caja 1. Esta disminución en el canibalismo relacionado con el número de partos ha sido reportada por Day y Bennett (1977).

Es evidente que la experiencia maternal tiene un efecto sobre el cuidado materno, ya que al repetir las condiciones no importó que hubiera o no subdivisiones en la caja, se tuvo como resultado 3 crías vivas hasta el destete.

CONCLUSIÓN

Se concluye que el proporcionar compartimentos permitió obtener mayor número de crías destetadas y que hay mayor habituación conforme hay más partos y lactancias colectivas.

BIBLIOGRFÍA

1. M. Daly. The maternal behavior cycle in golden hamster (*Mesocricetus auratus*). *Zeitschrift für tierpsychologie*. Vol 31, No 3. 1972, pp 289-299.
2. C.S. Day y Bennet G.G.. Pup cannibalism: one aspect of maternal behavior in golden hamsters. *Journal of comparative and physiological psychology* Vol 91 No 5, 1977, pp 1179-1189.
3. M. Chelini, R. Palme and E. Otta. Social stress and reproductive success in the female Syrian hamster: endocrine and behavioral correlates. *Physiol. Behav.* Vol 104, No. 5, pp:948-954.
4. R.Gattermann, Fritzsche P, Neumann K, Al-Hussein, Kayser A, Abiad M.. Notes on the current distribution and the ecology of wild golden hamster (*Mesocricetus auratus*). *J. Zool.* Vol 254, 2001, pp 359-365.
5. R. Gattermann, Weinandy R. Time of day and stress response to different stressors in experimental animals. Part 1: Golden Hamster (*Mesocricetus auratus* Waterhouse, 1839). *J. Exp. Anim. Sci.* Vol 38, 1996, pp 66-76.
6. R.F. Guerra y Nunes C.R Effects of litter size on maternal care, body weight and infant development in golden hámster (*Mesocricetus auratus*). *Behavior Processes*. Vol 55, No 3, . 2001, pp 127-142.
7. H. Magalhaes, Hamsters. Pp 250-271. In: Hafez, E.S.E. (Ed.) *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals*. De. Lea y Fabiger, Philadelphia, EUA. 1970.
8. D.M. Marques y Valenstein E.S. Another hamster paradox: more males carry pups and fewer kill and cannibalize young than do females. *Journal of comparative and physiological psychology*. Vol 90, No 7, 1976 pp 653-657.
9. E. Noiro. Ultrasounds and maternal behavior in small rodents. *Developmental Psychobiology* Vol 5, No 4, 1972, pp 371-387.

10. N.C Pratt y Lisk RD. Effects of social stress during early pregnancy on litter size and sex ration in the golden hamster (*Mesocricetus auratus*). *J. Reprod. Fertil.* Vol 87, 1972, pp 763-769.
11. JE, Schneider y GN, Wade. Effects of maternal diet, body weight and body composition on infanticide in Syrian hamsters. *Physiol. Behav.* Vol 46, No 5, 1989, pp 815-21.
12. J. Silvan. *Raising Laboratory Animals: A Handbook for Biological and Behavioral Research.* New York: The Natural History Press. 1966.
13. H. Siegel and J. Rosenblatt. Hormonal and behavioral aspects of maternal care in the hamster: a review. *Neurosci. Biobehav. Rev.* Vol. 4, No. 1, 1980. pp: 17-26.
14. D. Summer. Report on the group breeding of Syrian Hamster. *CALAS Newsletter*, Vol 4, 1972, pp: 58-59.
15. D .Wise Aggression in the female golden hamster: effects of reproductive state and social isolation. *Horm. Behav.* Vol 5, No 3, 1974, pp 235-250.
16. D. Wise and T. Pryor. Effects of ergocornine and prolactine on aggression in the postpartum golden hamster. *Hormones and Behavior*, vol 8, No. 1, 1977. pp 30-39.

MORFOMETRÍA PARCIAL DE *CENTROPOMUS* (PERCIFORMES: CENTROPOMIDAE) DE LAS COSTAS DE MÉXICO.

Norma Gabriela Zermeño Herrera, Cesar Isaac Nava Gallegos, Catalina Machuca Rodríguez, Ernesto Mendoza Vallejo

Laboratorio de Sistemática de Peces- FES Zaragoza, UNAM.

RESUMEN

Las especies de la familia Centropomidae manifiestan a lo largo de su ontogenia una morfología bastante similar dificultando su taxonomía, por lo que este trabajo aborda la morfometría lineal como una herramienta taxonómica para reconocer y comparar variaciones entre 4 de las 12 especies del género *Centropomus*, *C. undecimalis* y *C. parallelus* de Laguna Grande y Laguna Tampamachoco, Veracruz, *C. medius* y *C. robalito* de Laguna de Chacahua, Oaxaca y Laguna Potosí, Guerrero. Los especímenes forman parte de la colección ictiológica de la FES Zaragoza, UNAM. El número de ejemplares para el análisis fue de 20 por especie, con longitud patrón de 140 a 190 mm, siendo consideradas 46 variables para todo el cuerpo. Las medidas fueron establecidas con base al método de Strauss y Bookstein (1982), denominado red inmovilizadora (TRUSS), los caracteres fueron modificados aplicando el ajuste alométrico para corregir la variación por talla, procediendo a realizar Análisis de Discriminantes. El análisis morfométrico permitió identificar variaciones discriminantes representativas: la longitud de la primera aleta dorsal al inicio superior de la aleta pélvica, longitud del inicio de la segunda aleta dorsal al inicio del occipital, longitud de la segunda aleta dorsal al borde posterior del ojo, longitud del inicio de la aleta pélvica al inicio de la premaxila, longitud cefálica, longitud del inicio de la segunda aleta dorsal al final de la mandíbula, longitud de la primera aleta dorsal al borde posterior del ojo. Los caracteres morfométricos facilitan la diferenciación entre las especies siendo un método alternativo eficaz en su identificación. Es de gran importancia resaltar que el análisis permitió obtener caracteres que no han sido incluidos en claves taxonómicas y que son muy representativos en la separación de las especies analizadas del género.

INTRODUCCIÓN

Los róbalos, nombre vernáculo con el que se conoce comúnmente a los miembros de la familia Centropomidae, representan a un pequeño grupo basal de peces percoideos demersales de origen marino, son anfiamericanos y endémicos de sus costas tropicales. Poseen complejos ciclos de vida enlazados con los distintos entornos litorales, como estuarios y lagunas costeras (Vergara-Chen, 2014).

En la actualidad la familia está representada por un solo género, *Centropomus* (Lacépède, 1802) con 12 especies nominales, seis en el Pacífico oriental que se distribuyen desde el Golfo de Baja California en el norte de México hasta las costas de Perú en Sudamérica y seis especies reconocidas para el Atlántico occidental (Rivas 1986) con un rango de distribución general como grupo, entre la península de Florida en los Estados Unidos de Norte América y en Sudamérica hasta las costas de Brasil, incluyendo las islas Antillas (Álvarez-Lanjonchère & Suzuki 2008).

Las especies de la familia Centropomidae manifiestan a lo largo de su desarrollo una morfología bastante similar lo que ha dificultado su reconocimiento y taxonomía (Rivas, 1986), esto debido a que en la actualidad las diagnosis junto con las claves taxonómicas utilizadas para la identificación de especies del género *Centropomus* presentan caracteres que llegan a superponerse, lo que dificulta la correcta determinación de las especies, por lo que el uso de la morfometría en los estudios ictiológicos ha contribuido de gran manera a resolver problemas taxonómicos ya que se ha empleado para evaluar la variación morfológica y con ello la separación de poblaciones y especies (Zelditch et al., 2004).

De esta manera, la morfometría lineal, se ha convertido en una herramienta fundamental ya que brinda una aproximación minuciosa y potente al cambio en la forma, permitiendo identificar y establecer características discriminantes entre poblaciones o especies, complementando así la descripción de caracteres propios de las especies, complementando así en un futuro las claves taxonómicas permitiendo mayor precisión en su determinación. En este trabajo se evalúa la variación morfológica entre 4 de las 12 especies del género *Centropomus* (*Centropomus robalito*, *Centropomus medius*, *Centropomus parallelus*, *Centropomus undecimalis*) a través de la morfometría lineal, identificando los caracteres más discriminativos entre ellas buscando además de contribuir con nuevos caracteres, avalar los ya establecidos en las descripciones taxonómicas.

PARTE EXPERIMENTAL

Los robalos utilizados en este trabajo forman parte de la colección ictiológica de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, fueron colectados entre los periodos de 1981 a 2008, siendo valoradas para este trabajo las especies *Centropomus robalito* y *Centropomus medius*, pertenecientes al Pacífico, en las localidades de Laguna Potosí en Guerrero, con coordenadas Lat. N 17° 31' 33" Long. W 101° 26' 00" y Laguna de Chacahua, Oaxaca, con coordenadas Lat. N 15° 58' Long. W 97° 42', así como *Centropomus parallelus* y *Centropomus undecimalis*, pertenecientes al Atlántico y colectados en las localidades de Laguna de Tampamachoco con coordenadas Lat. N 20° 57' Long. W 97°24', y el sistema Laguna Grande - Laguna Chica con coordenadas 14 Q 0748986 UTM 2219178. Los ejemplares se obtuvieron por medio de una red de arrastre de tipo camaronero de abertura de malla de ¾ pulgadas, y 7 metros de largo, así como por trasmallos de 2.5 pulgadas de abertura de malla y 80 metros de largo por 2 metros de altura.

FASE DE LABORATORIO

La determinación taxonómica se realizó con el apoyo de las claves emitidas por FAO (2002); y Castro-Aguirre et al., (2002) y se obtuvo un registro de la colección de centropómidos en una bitácora con los siguientes datos: localidad, fecha de colecta, nombre científico, familia, colector, persona que determinó y fecha de captura, así como la longitud patrón(mm) obtenida con ayuda de un vernier y el peso de cada espécimen por medio de una balanza granataria.

El número de ejemplares empleados para el análisis morfométrico fue de 20 organismos para cada especie (*Centropomus robalito*, *Centropomus medius*, *Centropomus parallelus*, *Centropomus undecimalis*). Las medidas morfométricas fueron establecidas en base al método de marcado propuesto por Strauss y Bookstein (1982), denominado red inmovilizadora (TRUSS), este método de marcado pretende corregir errores de medición generados por las deformaciones del cuerpo de los especímenes al momento de estar conservados, provocando a menudo errores de precisión en la medición.

Además, se proponen algunas variables morfométricas en las que se espera obtener resultados significativos (Figura 1), éstas se han considerado por las diferencias observadas y por las diferencias determinadas en claves taxonómicas entre las especies analizadas (*Centropomus robalito*, *Centropomus medius*, *Centropomus parallelus*, *Centropomus undecimalis*). Los caracteres morfométricos empleados son los siguientes (Tabla 1):

Tabla 1.- Caracteres morfométricos empleados para el análisis en las cuatro especies anteriormente mencionadas.

Etiqueta	Carácter morfométrico
1	Longitud del inicio de la primera aleta dorsal al inicio del occipital
2	Longitud del inicio de la primera aleta dorsal al inicio de la premaxila
3	Longitud del inicio de la primera aleta dorsal al borde posterior del ojo
4	Longitud del inicio de la primera aleta dorsal al inicio superior de la aleta pectoral
5	Longitud del inicio de la primera aleta dorsal al inicio superior de la aleta pélvica
6	Longitud del final de la primera aleta dorsal al inicio del occipital
7	Longitud del final de la primera aleta dorsal al final de la mandíbula
8	Longitud del final de la primera aleta dorsal al borde posterior del ojo
9	Longitud del final de la primera aleta dorsal al inicio superior de la aleta pectoral
10	Longitud del final de la primera aleta dorsal al inicio superior de la aleta pélvica
11	Longitud del final de la primera aleta dorsal al inicio de la aleta anal
12	Longitud del final de la primera aleta dorsal a la base de la aleta caudal
13	Longitud del inicio de la segunda aleta dorsal al inicio del occipital
14	Longitud del inicio de la segunda aleta dorsal al final de la mandíbula
15	Longitud del inicio de la segunda aleta dorsal al borde posterior del ojo
16	Longitud del inicio de la segunda aleta dorsal al inicio superior de la

	aleta pectoral
17	Longitud del inicio de la segunda aleta dorsal al inicio superior de la aleta pélvica
18	Longitud del inicio de la segunda aleta dorsal al inicio de la aleta anal
19	Longitud del inicio de la segunda aleta dorsal a la base de la aleta caudal
20	Longitud del final de la segunda aleta dorsal al inicio del occipital
21	Longitud del final de la segunda aleta dorsal al final de la mandíbula
22	Longitud del final de la segunda aleta dorsal al borde posterior del ojo
23	Longitud del final de la segunda aleta dorsal al inicio superior de la aleta pectoral
24	Longitud del final de la segunda aleta dorsal al inicio superior de la aleta pélvica
25	Longitud del final de la segunda aleta dorsal al inicio de la aleta anal
26	Longitud del final de la segunda aleta dorsal a la base de la aleta caudal
27	Longitud de la aleta pélvica
28	Longitud del inicio de la aleta pélvica al inicio de la premaxila
29	Longitud del inicio de la aleta pélvica al inicio de la aleta anal
30	Longitud del inicio de la aleta pélvica a la base de la aleta caudal
31	Longitud cefálica
32	Longitud de la mandíbula
33	Longitud del occipital al borde posterior del ojo
34	Longitud del occipital al final del opérculo
35	Longitud del occipital al inicio de la premaxila
36	Ancho de la maxila
37	Longitud de la premaxila a la base de la aleta pectoral
38	Longitud de la premaxila a la maxila
39	Longitud del final de la mandíbula a la base de la aleta pélvica
40	Altura cefálica
41	Longitud del inicio de la aleta anal a la base de la aleta caudal
42	Longitud de la tercera espina de la primera aleta dorsal
43	Longitud de la segunda espina de la aleta anal
44	Diámetro del ojo
45	Ancho del preopérculo
46	Longitud del final de la primera aleta dorsal al inicio de la segunda aleta dorsal

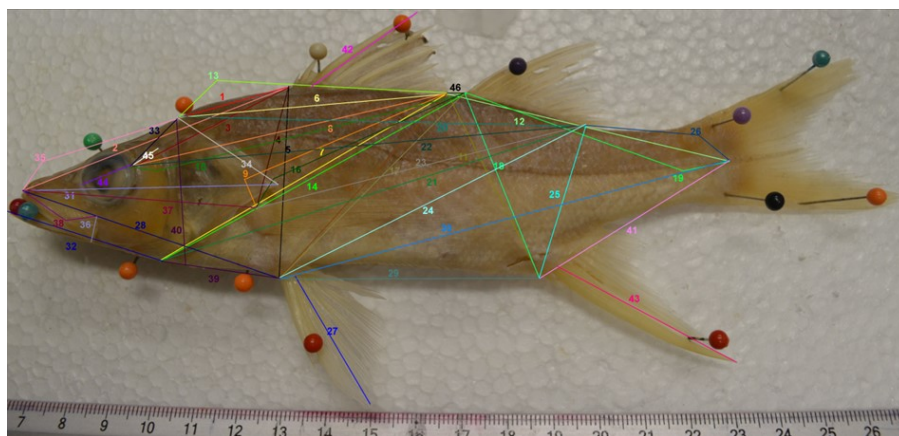


Figura 1. Variables morfométricas analizadas en las cuatro especies del género *Centropomus*.

El tamaño y la información de la forma pueden proporcionar ideas fundamentalmente diferentes sobre las relaciones entre los organismos. El tamaño y la forma covarían y tal covariación implica una relación cambiante entre el tamaño (Gould 1966).

La mayoría de las medidas de forma están de alguna manera relacionadas con el tamaño. Cualquier cambio en el tamaño de las muestras resultará un cambio en la forma. Dicho cambio en el tamaño y la forma entre las muestras puede provenir de sesgos de muestreo o diferencias en los patrones de crecimiento. Por estas razones, la comparación de las muestras idealmente debería ser en términos de variaciones de forma libres de efectos de magnitud como el tamaño (Reist, 1985)

Las variables morfométricas fueron modificados aplicando el ajuste por alometría propuesta por Reist (1985), con el propósito de corregir la variación en las medidas morfométricas debido a las diferencias de tallas de los ejemplares, mediante la siguiente ecuación 1 y 2:

$$[1] \hat{Y} = 10^k$$

Donde \hat{Y} es el valor morfométrico predicho para cada individuo por cada variable en el tamaño medio de todo individuo.

$$[2] e = \log Y - \beta(\log X - \log \bar{x}_{STL})$$

Y es la medida original para cada individuo de cada variable, β es el coeficiente alométrico estimado (pendiente entre la relación lineal de $\log Y$ y $\log X$ para cada especie), \bar{x}_{STL} es la media de la longitud patrón de los ejemplares analizados.

Análisis de Discriminantes.

El análisis de discriminantes está diseñado para desarrollar un conjunto de funciones discriminantes que pueden ayudar a predecir especies basándose en valores de otras variables cuantitativas, también el análisis discriminante ayuda a crear funciones capaces de separar con mayor precisión a los miembros de uno u otro grupo, identificando las variables discriminativas a la separación de las poblaciones específicas a estudiar.

RESULTADOS

La modificación de las medidas morfométricas nos permitió realizar comparaciones de la forma independientemente del factor de tamaño. Con los datos ajustados se prosiguió a realizar análisis estadístico en particular análisis discriminante. Los resultados del se indican en las Tablas 2, 3.

La Tabla 2 muestra los autovalores propios y porcentaje relativo de cada función discriminante, el autovalor es el cociente entre la variación debida a las diferencias entre los grupos y la variación que se da dentro de cada grupo combinada en una única cantidad. En la tabla aparecen los autovalores correspondientes a cada función discriminante; la primera función discriminante contiene un autovalor del 1171.47 y su porcentaje relativo es del 50.56% mientras que la segunda función el autovalor es de 647.859 y su porcentaje relativo es del 27.96%, la proporción relativa acumulada entre las dos primeras funciones discriminantes es de 78.52% de las diferencias existentes entre los ejemplares de las especies.

Tabla 2. Auto valores propios de las funciones discriminantes.

Función Discriminante	Eigenvalor	Porcentaje Relativo
1	1171.47	50.56
2	647.859	27.96
3	497.672	21.48

La Tabla 3 muestra los coeficientes de las funciones utilizadas para discriminar entre los diferentes niveles de especies. Los coeficientes que con valores altos indican que la variable morfométrica tiene mayor peso en la función discriminante.

Tabla 3.- Coeficientes de las funciones discriminantes.

	función 1	función 2
10	-28.7285	-21.3847
13	28.2878	14.0871
14	2.32234	-12.1265
15	-62.4565	-19.1326
17	27.5894	21.8045
22	33.0488	37.4315
28	13.0777	-1.93052
3	1.50481	-23.951
31	-10.3719	-3.20535
8	60.4326	12.8245

Las variables morfométricos mas discriminativos en la separación de las 4 especies se representan en la Figura 2. Estas variables son las siguientes: longitud del final de la primera aleta dorsal al inicio superior de la aleta pélvica, longitud del inicio de la segunda aleta dorsal al inicio del occipital, longitud del inicio de la segunda aleta dorsal al final de la mandíbula, longitud del inicio de la segunda aleta dorsal al borde posterior del ojo, longitud del inicio de la segunda aleta dorsal al inicio superior de la aleta pélvica, longitud del final de la segunda aleta dorsal al borde posterior del ojo, longitud del inicio de la aleta pélvica al inicio de la premaxila, longitud del inicio de la primera aleta dorsal al borde posterior del ojo, longitud cefálica, longitud del final de la primera aleta dorsal al borde posterior del ojo.

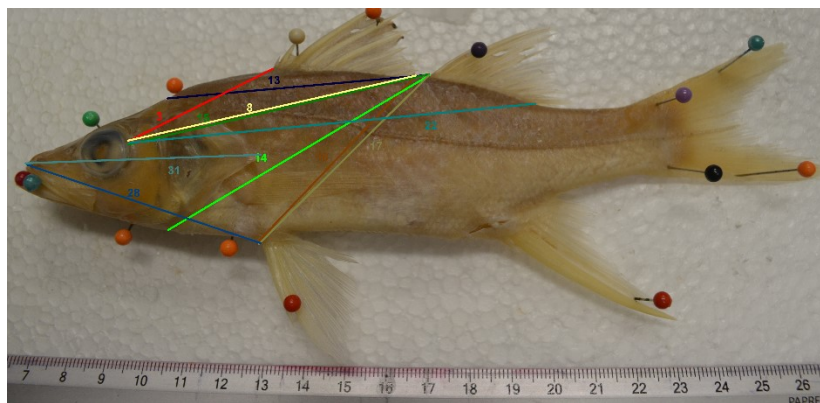


Figura 2.- Variables discriminantes propuestas en morfometria del género *Centropomus*.

Las variables morfométricas que fueron discriminantes son mostradas en la Figura 2, las distancias morfométricas estan representadas mediante el numero establecido en la Tabla 1. Los resultados indican una diferencia en longitud de la primera aleta dorsal y la segunda aleta dorsal al borde posterior del ojo, la aleta pelvica, final de la mandibula, e inicio del occipital, ademas de diferencia significativa como la longitud cefalica entre las cuatro especies del género *Centropomus*

El gráfico del análisis discriminante (Gráfico 1) podemos observar la separación de los especímenes de las cuatro especies del género *Centropomus* ubicadas de acuerdo a las dos primeras funciones discriminantes.

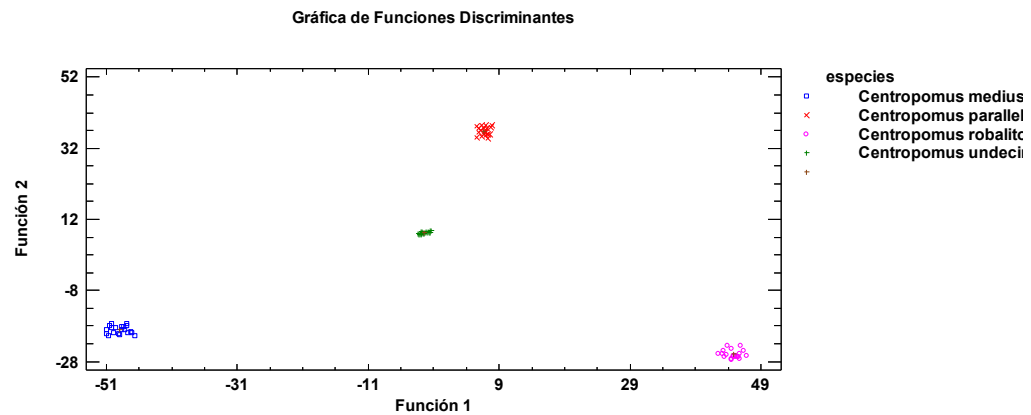


Gráfico 1.- Gráfico del análisis discriminante.

CONCLUSIONES

El análisis morfométrico permite identificar las variaciones que separaran a las especies del género *Centropomus* con el propósito de identificar áreas específicas del cuerpo para cada especie, siendo la diferencia más representativa la longitud de la primera y segunda aleta dorsal al borde posterior del ojo, a la aleta pélvica, al final de la mandíbula y al inicio del occipital, además de la longitud cefálica y longitud de la mandíbula.

Es de gran importancia resaltar que el análisis morfométrico nos permitió obtener caracteres que no han sido incluidos en los métodos tradicionales y que son muy representativos en la separación de las especies analizadas del género, esto por ser discriminantes entre ellas. Los análisis cuantitativos de variación morfológica intra e interespecífica son sólo una de las aproximaciones utilizadas en estudios de biología evolutiva y sistemática. Otros análisis incluyen estudios de la variación genética y de historia demográfica de las especies (Prodocimo et al., 2008).

BIBLIOGRAFÍA

1. Álvarez-Lanjonchère, L. & T.M. Suzuki. 2008. A review of methods for *Centropomus* spp. (snooks) aquaculture and recommendations for the establishment of their culture in Latin America. *Aquaculture Res.* 39: 684-700.
2. Dujardin JP. PADwin (Software for Discriminant Analysis). Institut de Recherches pour le Développement. 2004.
3. Gumiel L, Catala S, Noireau F, Rojas de Arias, Garcia A, Dujardin JP. Wing geometry in
4. *Triatoma infestans* (Klug) and *T. melanosoma* Martinez, Olmedo & Carcavallo (Hemiptera:Reduvidae). *Syst Entomol* 2003; 28:173-9.
5. Rivas, L.R. 1986. Systematic review of the Perciform fishes of the genus *Centropomus*. *Copeia* 3: 579-611.
6. Rohlf FJ, Marcus LF. A revolution in morphometrics. *Trends Ecol Evol.* 1993; 8:129-32.
7. Sites, J.W., Marshall. J.C.. Delimiting species: a Renaissance issue in systematic biology *Trends in Ecology and Evolution*, 18 (2003), pp. 462–470
8. Vergara-Chen, Carlos. 2014. Los robalos (Pisces, Centropomidae) del Pacífico de Panamá: Desafíos emergentes en investigación y conservación. Instituto de Investigaciones Científicas y Servicios de Alta Tecnología (INDICASAT-AIP), Apartado 0843-01103 Panamá, Panamá.
9. Zelditch, M. L., D. L. Swiderski, H. D. Sheets and W. L. Fink. 2004. Geometric morphometrics for biologist: a primer. Elsevier Academic Press, New York. 443 (pag. 5)

ESTUDIO DE DOS ESQUEMAS DE TRATAMIENTO PARA LA INTOXICACIÓN POR PLOMO

Sadia Joyce Mendez Velasco, Leticia Guadalupe Navarro Moreno, Fabiola Hernández Sánchez.

Universidad del Papaloapan Campus Tuxtepec. Av. Circuito Central No. 200. Colonia Parque Industrial, Tuxtepec, Oaxaca. C. P. 68300. Correo electrónico: j_mendez92@hotmail.com Lgnavarrom@hotmail.com

RESUMEN

El plomo es un metal pesado no esencial y que en concentraciones bajas puede ser tóxico para el organismo. Entre los principales efectos de la exposición a plomo se encuentra la generación de estrés oxidativo, mismo que desencadena alteraciones renales¹, hepáticas² y daños al sistema nervioso³, lo que conlleva a la generación de distintas enfermedades. Sin embargo los síntomas por intoxicación por plomo, se pueden confundir con otras patologías por lo que su estudio resulta de mucha importancia. Existen algunos tratamientos para los daños directos e indirectos ocasionados por este metal. En relación con los daños por estrés oxidativo no existen métodos eficientes lo que ha originado la necesidad de estudiar esquemas de tratamiento alternativos para la intoxicación contra este metal. Por otro lado existe una relación entre la cantidad de especies reactivas de oxígeno y la actividad de la enzima Glutatión S-transferasa ya que es sensible al daño oxidativo provocado por este metal. Por lo anterior este trabajo tiene como objetivo el estudio de dos esquemas de tratamiento para el tratamiento de la intoxicación ocasionada por este metal a base de un agente quelante ácido dimercaptosuccinico (DMSA) y la administración de un extracto natural Aloe vera en animales de laboratorio expuestos a plomo de manera aguda.

INTRODUCCIÓN

Los metales pesados tienen un alto peso atómico y una densidad mayor a la del agua. Se clasifican en esenciales y no esenciales. Los primeros cumplen con una función metabólica dentro de la célula, como ejemplos se pueden citar al hierro, al selenio, al cobre o al zinc. Los metales no esenciales se comportan como agentes tóxicos ya que no tienen un efecto benéfico o vital sobre los organismos; su acumulación dentro del cuerpo puede provocar enfermedades graves. Entre éstos se pueden mencionar el plomo, el mercurio y el cadmio; muchos de ellos son utilizados en diversas aplicaciones industriales, domésticas, agrícolas o tecnológicas⁸.

La toxicidad de los metales en el humano depende de varios factores, incluyendo la naturaleza del compuesto o compuestos que pueda formar, la dosis, la vía de exposición, así como la edad, el género, la genética y el estado nutricional de los individuos expuestos⁷. Los daños generados por la toxicidad de los metales se relacionan con las interacciones que establecen con macromoléculas como proteínas (muchas de ellas con actividad enzimática), ácidos nucleicos y lípidos afectando diversos procesos bioquímicos así como estructuras celulares fundamentales como las membranas⁷.

El plomo puede afectar la salud y por ello la calidad de vida de los seres humanos, debido a que no puede ser metabolizado por los seres vivos y tampoco cumple con alguna función como cofactor o ligante de algún proceso enzimático.

El plomo en México.

México, con sus grandes depósitos de plomo y el uso extendido de alfarería vidriada, tiene una historia larga y única de exposición a este metal. Debido a la tecnología y a la tradición, el plomo sigue amenazando la salud de millones de personas que viven en el país, además de los daños reportados en varias especies animales y vegetales. En 1990, México comenzó a eliminar el plomo (en forma de tetraetilplomo) de la gasolina e introdujo los combustibles libres del metal. En 1997 la gasolina con plomo se eliminó por completo en nuestro país. Desde entonces se observó que la reducción de gases con plomo se encontraba ligada a mejoras en la salud. Sin embargo, y a pesar de ello, el plomo sigue siendo un problema tanto en poblaciones urbanas como rurales debido a que existen muchas fuentes de exposición, mismas que se distribuyen a lo largo de los diferentes ecosistemas llegando a plantas, animales y humanos.

Plomo como problema de salud.

Las manifestaciones clínicas de las intoxicaciones por plomo son variables, según la vía de ingreso, la cantidad absorbida, el tiempo de exposición, las características propias del individuo expuesto, y el tipo de exposición (ocupacional o no ocupacional). Se ha intentado establecer una relación entre la concentración de plomo en

sangre y los efectos en la salud de niños y adultos. Por ello se han establecido niveles y síntomas relacionados con los mismos. En la figura 1 se muestra la relación entre plomo en sangre y algunos padecimientos que Garza reportó en 2005. Niveles relativamente bajos de plomo pueden ocasionar disfunción cognitiva, trastornos neuroconductuales, daño neurológico, la hipertensión e insuficiencia renal, pérdida de agudeza visual, aumento de las protoporfirinas, así como de la presión sanguínea sistólica. A niveles mayores a 50 microgramos de plomo en sangre se puede observar disminución en la síntesis de hemoglobina, disminución de la longevidad, anemia franca, encefalopatía, neuropatía, cólicos y en algunas ocasiones muerte en niños^{5,9}.

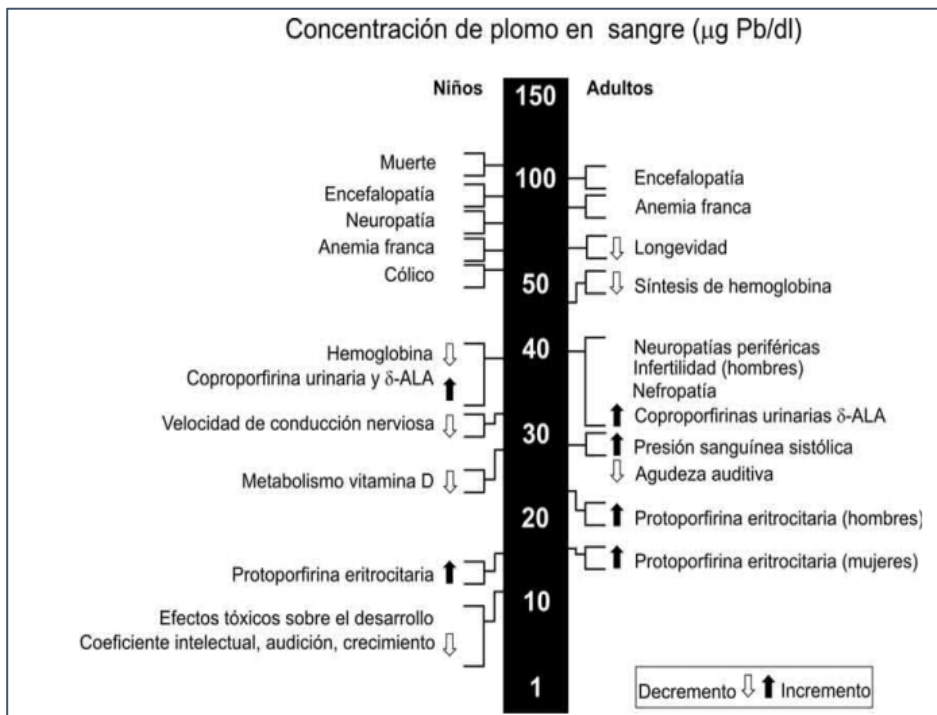


Figura 9. Alteraciones patológicas observadas en niños y adultos a diferentes concentraciones de plomo en sangre (Tomado de Garza, 2005).

Tratamientos.

Se han propuesto varias hipótesis para explicar los mecanismos de toxicidad del plomo, sin embargo, no se ha definido, hasta el momento, un mecanismo único. Se sabe que este metal es capaz de promover la generación de especies reactivas del oxígeno (EROs) al afectar la actividad de enzimas antioxidantes como catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx), glutatión reductasa (GR), entre otras. Éstas al ser inhibidas directamente por el plomo ya no llevarán a cabo su función, por lo cual el nivel de especies reactivas de oxígeno aumentará y generará daños en macromoléculas esenciales para el funcionamiento celular. En la figura 2 se muestran los efectos directos del metal (inhibición enzimática) y los indirectos (daño a macromoléculas esenciales).

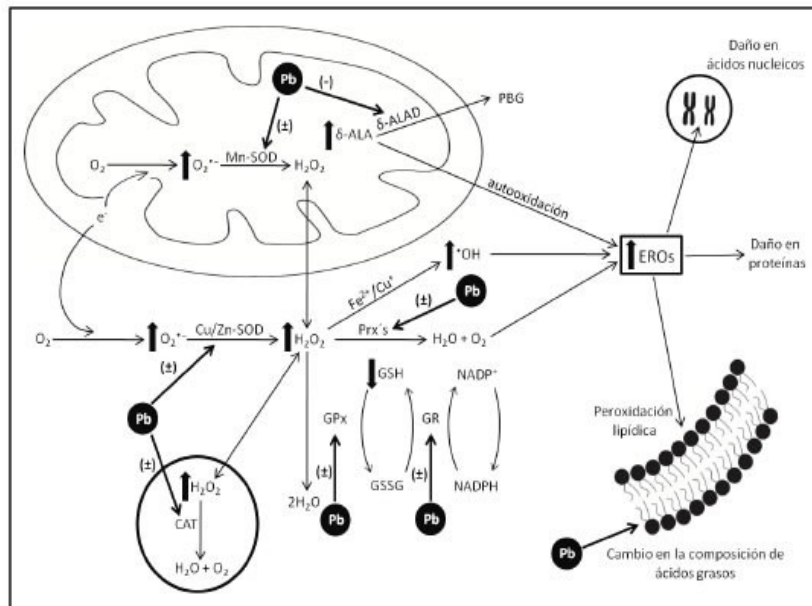


Figura 10. Efectos directos e indirectos del plomo en la célula (Tomado de Martínezl, 2011).

Agentes quelantes.

El enfoque terapéutico actual para envenenamiento plomo es aumentar su excreción por la quelación. Los quelantes han mostrado reducir los niveles sanguíneos de este metal; Sin embargo, su seguridad y eficacia puede ser cuestionada⁴. Numerosos estudios en animales y humanos han demostrado que la administración del ácido meso-2,3-dimercaptosuccínico (DMSA) aumenta la excreción de mercurio en la orina y reduce la sangre y el tejido concentración de mercurio (Swaran, 2010). De la misma manera se ha observado que este agente quelante puede reducir los niveles de plomo en la sangre, el cerebro y otros tejidos. Ha sido reportado que el DMSA es uno de los tratamientos con agentes quelantes menos tóxico que otros agentes quelantes como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), la penicilamina y el ácido etilenglicoltetraacético (EGTA) y que este compuesto podría ser administrado a través de la vía oral⁴. Otra ventaja de este compuesto es que es específico para plomo, por lo que su uso no influye en los niveles de metales esenciales que pueden ser quelados con otros agentes quelantes. Sin embargo, el uso de agentes quelantes es delicado debido a que puede romper la homeostasis de algunos metales esenciales. Por ello se han buscado otras formas de prevenir o revertir el daño por exposición al metal, entre ellas se encuentra el uso de algunos compuestos naturales como antioxidantes.

Antioxidantes.

Los antioxidantes son moléculas capaces de reaccionar directamente con especies reactivas; pueden ser endógenos o exógenos y su uso se relaciona con la capacidad que presentan para regular los efectos del estrés oxidativo ocasionado por la generación de especies reactivas de oxígeno (EROS). Como una manera de ayudar a los sistemas antioxidantes internos se ha propuesto, desde hace algunos años, el uso de agentes antioxidantes exógenos dentro de los cuales se encuentran las xantinas, los flavonoides y los beta-carotenos entre otros. En general los agentes antioxidantes exógenos se obtienen a partir de extractos naturales de plantas completas, hojas, raíces o flores de diferente especie. Uno de estos es el Aloe vera, que será el objeto de este trabajo y a continuación se mencionarán algunas de sus generalidades.

Aloe Vera (*Aloe barbadensis* Miller).

La planta posee hojas verdes turgentes unidas al tallo en un patrón de roseta. Cada hoja consta de dos partes: una corteza exterior de color verde (de la piel) y una pulpa interior clara (gel). La planta contiene una gran cantidad de compuestos fenólicos con un alto contenido de derivados de 1,8-dihidroxiantraquinona y glucósidos. Diversos estudios han puesto de manifiesto que la hoja de Aloe vera posee muchas propiedades farmacéuticas como purgante, antibacteriano, anticancerígeno, antifúngico y antioxidante¹¹. Algunos estudios han demostrado actividad antioxidante semejante a la del α-tocoferol¹². Sus propiedades antioxidantes se atribuyen al tener un contenido de alfa-tocoferol, carotenoides, ácido ascórbico y flavonoides⁵.

PARTE EXPERIMENTAL

Para esta investigación se trabajó con cuatro grupos experimentales constituidos por seis ratas cada uno que fueron clasificados de la siguiente manera.

- Grupo control: Los animales se mantuvieron bajo una dieta normal y agua potable durante todo el periodo experimental.
- Grupo expuesto a plomo: Los animales fueron intoxicados vía intraperitoneal con una dosis de 25 mg de acetato de plomo por kilogramo de peso corporal. Este fue administrado cada tercer día durante un periodo de 15 días.
- Grupo expuesto con Aloe vera: Los animales fueron tratados por vía oral con una solución de Aloe vera a una concentración de 0.2 g /100 ml durante los quince días de intoxicación con plomo.
- Grupo expuesto con DMSA. Los animales fueron tratados por vía intraperitoneal con una solución de DMSA a una concentración de 25 mg/Kg de peso corporal durante los quince días de intoxicación con plomo. Este fue administrado cada tercer día durante un periodo de 15 días.

Una vez terminado el tiempo de intoxicación y tratamiento, los animales fueron colocados en una caja metabólica para tomar muestras de orina de 24 horas. Posteriormente fueron anestesiados con pentobarbital sódico. Se extirparon los órganos riñones, hígado y cerebro y finalmente se tomó una muestra de sangre, a la cual se le añadió anticoagulante. Los ensayos bioquímicos realizados fueron la medición de proteínas totales por el método de Lowry, la medición de la actividad de la enzima Glutación s-transferasa, la cuantificación de especies reactivas de oxígeno y el examen general de orina.

RESULTADOS

Pesos corporales

En la tabla 1 se pueden ver los pesos inicial y final de los grupos estudiados en esta investigación. El grupo expuesto a plomo disminuye 28 g comparado con el grupo control. El grupo tratado con DMSA no se ve una diferencia significativa con respecto al grupo control y el grupo tratado con aloe vera aumenta el peso corporal de los animales. Estos resultados indican que el plomo tiene un efecto en el organismo de los animales lo que se ve reflejado en la disminución de peso. El grupo tratado con el agente quelante muestra una disminución de peso menor a la que se observa tanto en el grupo control como en el expuesto a plomo; por otro lado el Aloe vera no ocasionó pérdida de peso sino un aumento de 16 gramos en el periodo de tratamiento debido, posiblemente, al contenido de compuestos antioxidantes presentes en esta planta.

Tabla 1. Pesos corporales en grupo control, grupo expuesto a plomo, antioxidantes y DMSA.

GRUPO	PESO INICIAL	PESO FINAL	Diferencia
Control	225.6 ± 17.40	214.7 ± 14.2	-10.9
Plomo	251.3 ± 10.5	211.8 ± 8.8	-39.5
Plomo + DMSA	237.1 ± 26.8	227.3 ± 28.5	-9.8
Plomo + Aloe vera	207 ± 6.9	223 ± 19.4	16

Especies reactivas de oxígeno.

Ha sido demostrado que uno de los efectos que tiene el plomo sobre las células es que contribuye al aumento de especies reactivas de oxígeno al inhibir algunas de las enzimas antioxidantes. Esto ha sido reportado anteriormente por algunos autores. Dentro de la Universidad del Papaloapan, un grupo de investigación ha reportado una relación entre la exposición a plomo, el aumento de las especies reactivas de oxígeno y la actividad de la enzima GST^{12,13}. En la tabla 2 se puede apreciar que la exposición a plomo genera el aumento de cerca de cinco veces la concentración de especies reactivas de oxígeno. Cuando se trata con DMSA a los animales intoxicados con plomo los niveles de especies reactivas disminuyen debido, posiblemente, a que el plomo es quelado y se está eliminando del organismo. Cuando los roedores expuestos a plomo fueron tratados con Aloe vera, los niveles de EROS disminuyeron considerablemente en relación con los animales no tratados, demostrando así que, probablemente, el contenido de antioxidantes del extracto logró disminuir la generación de estas especies al ser queladas por el compuesto o al ser convertidas en especies estables.

Tabla 2. Especies reactivas de oxígeno en grupo control, grupo expuesto a plomo, antioxidantes y DMSA

($\alpha=0.05$, las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes).

GRUPO	CONTROL	PLOMO	PLOMO + DMSA	PLOMO + ALOE VERA
Especies Reactivos de Oxígeno. (nmol/mg)	18.458 ± 0.924 b	23.59 ± 3.51 a	19.120 ± 0.609 b	17.37 ± 3.34 b

Actividad de la enzima Glutación S-transferasa (GST).

La enzima GST es una enzima que, recientemente, se ha propuesto como una proteína indicadora de daño. En nuestro grupo de investigación hemos establecido una posible relación entre la intoxicación renal con plomo y el aumento de la actividad enzimática, por lo cual se ha propuesto que esta molécula podría establecerse como un posible indicador de daño renal por plomo. La tabla 3 muestra que la exposición a plomo originó un aumento considerable en la actividad de la enzima. Sin embargo, al tratar a los animales intoxicados con plomo con el DMSA la actividad de la enzima aumentó posiblemente debido a que la enzima reconoce al quelante o a sus productos como xenobióticos.

Al tratar los animales con extracto de Aloe vera se observó un aumento de siete unidades la actividad de la enzima en relación con el control. Esto podría indicar que la presencia de diferentes polifenoles podría estar participando en el metabolismo de xenobióticos.

Tabla 3. Actividad de la enzima GST en grupo control, grupo expuesto a plomo, tratado con antioxidantes y DMSA.

($\alpha=0.05$, las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes).

Grupos	Control	Plomo	Plomo + DMSA	Plomo + Aloe vera
GST (nmol/min/mg)	6.69 ± 1.8 c	13.46 ± 1.42 b	23.46 ± 4.8 a	13.0 ± 2.5 b

CONCLUSIONES

La exposición a plomo origina daños poco notorios que requieren de periodos largos para ser detectados. Los médicos pueden relacionar los síntomas de exposición a este metal con otras enfermedades, esto trae como consecuencia que el estudio del fenómeno de la intoxicación con plomo sea muy complicado. El plomo puede ocasionar daños a diferentes seres vivos y es función de la especie, el estado de salud, la edad, el sexo, la vía de entrada, la dosis y los mecanismos que pueda generar la célula para tratar de defenderse. El esquema de intoxicación empleado es agudo a una dosis baja de plomo pero capaz de ocasionar daño. Las ratas tratadas bajo este esquema desarrollaron daño por estrés oxidativo, lo cual indica que el plomo, bajo estas condiciones, dañó a las células renales mediante una acción indirecta.

Hasta el momento se ha observado que el extracto a base de Aloe vera y el tratamiento con DMSA lograron disminuir la concentración de especies reactivas de oxígeno. El extracto cuenta con algunas características antioxidantes por lo cual pudo ayudar a mejorar el estado renal de los animales utilizados en este estudio. Sin embargo al medir la actividad de la enzima aumentaron esto debido a que está jugando un rol en la desintoxicación de estos xenobioticos

BIBLIOGRAFÍA

1.-Poma, P. (2008). Intoxicación por plomo en humanos. *An Fac med*, 120-126.

- 2.-Alcaraz, Y. P. (2012). Hepatotoxicidad por exposición a plomo y su proteccion con tiámina y ácido ascórbico. *Rev Mex Cienc Farm* 2012, 72-78.
- 3.-Díaz, J. H. (2011). Lead and developmental neurotoxicity of the central nervous system . *Current Neurobiology* , 35-42.
- 4.-Martínez, S; Cancela, L; Virgolini, M. (2011). *El estrés oxidativo como mecanismo de acción del plomo. Implicaciones terapéuticas.* *Acta Toxicol.* 19 (2): 61-79
- 5.- Patrick, L. (2006). *Lead Toxicity Part II: The Role of Free Radical Damage and the Use of Antioxidants in the Pathology and Treatment of Lead Toxicity.* *Alternative Medicine Review* 11(2), 114-127
- 6.- Swaran, J., & Vidhu, P. (2010). Chelation in metal intoxication. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 7, 2745-2788.
- 7.-Tchounwou, B. Y. (2012). Heavy metals toxicity and the environment. *NIH Public Access*, 133-164.
- 8.-Singh, R. G. (2011). Heavy metals and living systems: An overview. *Indian Journal of Pharmacology*, 43(3), 246-253.
- 9.- Garza, A., Chávez, H., Vega, R., & Soto, E. (2005). Mecanismos celulares y moleculares de la neurotoxicidad por plomo. *Salud menta*, 28(2), 48-58
- 10.- Fontana, D; Lascano, V; Solá, N; Martínez, S; Virgolini, M; Mazzieri, M. (2013). *Intoxicación por plomo y su tratamiento farmacológico*, *Revista de Salud Pública*, (XVII) 1:49-59.
- 11.- Maher K, M. S. (2011). In vitro study onf the PLA2 inhibition and antioxidant activities of Aloe Vera leaf skin extracts. *Lipids in health and disease*, 10(30).
- 12.- Yun H, J. X. (2003). Evaluation of antioxidant potential of Aloe Vera (*Aloe barbedensis* Miller)extracts. *J. Agric. Food Chem*, 51, 7788-7791.
- 12.-Hernández, M. Tesis licenciatura. Universidad del Papaloapan, Campus Tuxtepec. Tuxtepec Oaxaca. 2013
- 13.-Amador-Hernández, J., Navarro, L. V., Garza, I., Colunga, E., & Hernández, M. (2015). Chemometrics as a Tool in the Study of Lead Toxicity in Rats. *J. Mex. Chem. Soc.*, 59(1), 11.

ESTUDIO DE LA APLICACIÓN DE LOS HEXACIANOMETALATOS PARA LA EPOXIDACIÓN DEL ESTIRENO

Molina Maldonado Paulina, Mendoza Hernández Fabian, Ruíz Guerrero María del Rosario

Instituto Politecnico Nacional ,Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, Legarí 694, Colonia Irrigación, 11500 Ciudad de México, mompau@gmail.com, fabianm_76@hotmail.com
 Instituto Politecnico Nacional ,Centro de Investigación e Innovación Tecnológica Cerrada de Cecati s/n, Azcapotzalco, Santa Catarina, 02250 Ciudad de México, rosarior@hotmail.com

RESUMEN

En el presente trabajo se integra como aplicación principal el uso de tres hexacianometalatos de metales de transición, del tipo análogos del azul de Prusia (PBA por sus siglas en Inglés *Prussian Blue Analogous*) como catalizadores en reacciones de oxidación para el estireno.

Los catalizadores empleados pertenecen al prototipo estructural del azul de Prusia ($Fe_4(Fe(CN)_6)_3$) que es el prototipo estructural de los hexacianometalatos, una de sus características estructurales es su enrejado cúbico, formado a partir de bloques octaédricos ($[M(CN)_6]^{n-}$) unidos a través de un metal de transición apropiado. Estos materiales tienen la particularidad de mantener la propiedad de meso-porosidad lo que los hace potencialmente útiles en catálisis heterogénea. Los resultados obtenidos, haciendo uso de estos materiales como catalizadores, para la epoxidación de alquenos son favorables al obtener más del 80% de eficiencia en este tipo de reacciones, al emplear estireno como modelo de alqueno para producir oxido de estireno en un tiempo promedio de 6h.

INTRODUCCIÓN

La ciencia de materiales es un campo emergente donde la Química juega un papel fundamental para explicar la relación estructura-propiedad-aplicación, en base a lo cual el material final deberá realizar una tarea determinada, de manera económica y socialmente responsable. Un aspecto importante a resaltar en este ambiente es la importancia de la síntesis y el procesamiento de cada componente.

En los últimos años aquellos materiales que presentan una estructura micro porosa, han despertado un gran interés no solo por sus impresionantes propiedades químicas, ópticas, eléctricas, resistencias mecánicas, etc. Si no por explotar las nuevas propiedades y fenómenos que emergen a dicha escala.

Dentro de la gran variedad de materiales que se consideran meso porosos, los hexacianometalatos de metales de transición pueden considerarse como materiales que contienen ensamblajes 3D de un bloque molecular; en donde el anión del bloque hexacianometalato $[M(CN)_6]^{n-}$, a un catión de un metal de transición $(T)^{m+}$, el cual se enlaza a la terminal -N del grupo -CN, con lo que su estructura se basa en un arreglo tridimensional de cadenas $T_i - C \equiv N - T_e$, donde el metal T_i , se encuentra enlazado al átomo de carbono (en donde se encuentra el metal interno), en la mayoría de los casos se organiza formando bloques octaédricos o tetraédricos Figura 1.

Dentro de la gran familia de compuestos pertenecientes a los hexacianometalatos, los cobalticianuros de cationes divalentes $(T)^{2+}$, con formula molecular $(T_3[Co(CN)_6]_2 \cdot xH_2O)$ son particularmente atractivos como materiales meso porosos. En estos materiales, la relación metal externo/metal interno excede la unidad, por lo que en la estructura, existirá un número de vacantes del bloque molecular $[T_i(CN)_6]$, igual al defecto del metal interno, necesaria para la neutralidad de cargas. En la existencia de dichas vacantes se encuentra el origen de la porosidad extendida en esta familia de materiales. En su estado natural, estos espacios libres se ocupan por moléculas de agua, las cuales se pueden remover sin que por ello colapse la estructura.

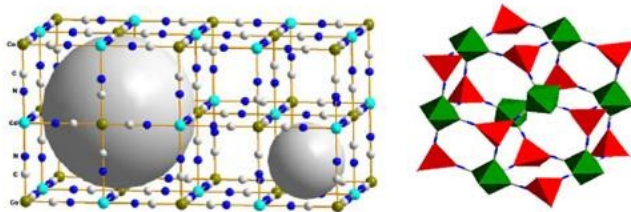


Figura 1 Enrejado poroso en fase cubica (lado izquierdo) y romboédrica (lado derecho) de los hexacianocobaltatos de metales de transición

La estructura meso-porosa de los hexacianometalatos ha motivado, históricamente su estudio como absorbentes, tamices moleculares y durante los últimos años también se han probado en el almacenamiento de hidrogeno.

En este trabajo empleamos a los hexacianometalatos como catalizadores en reacciones de oxidación, tomando como modelo de alqueno al Estireno, para la formación de epóxido de estireno, debido al gran interés industrial en la obtención de este importante precursor, ya que debido a la facilidad de apertura de su anillo de tres átomos, que se encuentra sometido a una gran tensión. Considerando que los ángulos del enlace del anillo, tiene un promedio de 60° , considerablemente menor que el ángulo tetraédrico del carbono (109.5°) o del correspondiente al oxígeno divalente en éteres de cadena abierta (110°). Como los átomos no pueden ubicarse para permitir un solapamiento máximo de orbitales, los enlaces resultan más débiles que en un éter ordinario teniendo como consecuencia que la molécula sea menos estable (Boyd, 1987), característica que es aprovechada para diferentes industrias, en la obtención de diversos compuestos.

Dentro de las reacciones que se pueden llevar a cabo se encuentran las reacciones de adición o acoplamiento (que tienen como finalidad principal el agrandamiento del producto de reacción), las reacciones de hidrólisis, esterificación y trans esterificación (reacciones que en su mayoría son aprovechadas para la obtención de productos de química fina) y reacciones de co-polimerización (reacciones que se aprovechan para la obtención de polímeros y plásticos de alto interés industrial).

PARTE EXPERIMENTAL

Se desarrolló una metodología experimental en dos etapas: primeramente se reprodujo la síntesis de una serie de hexacianocobaltatos con diferentes metales de transición, para seguidamente probar su actividad catalítica en la oxidación del estireno, a continuación se detalla la síntesis y metodología para las pruebas catalíticas.

- Síntesis del material

La familia de materiales cúbicos $T_3[Co(CN)_6]_2$ donde T= Mn, Co, Cu y Ni; se sintetizaron por el método de precipitación. En donde una solución 0.01M del cobaltocianuro de potasio se adiciona mediante un goteo lento a la solución del metal ensamblador que se encuentra en exceso, con ayuda de un agitador. La cantidad en exceso de los metales involucrados garantiza la formación de una sola fase. Durante la adición de la solución de cobaltocianuro de potasio se observa la formación de precipitado. La suspensión resultante se agita durante una hora y se deja reposar en el licor madre por 48 h., posteriormente el precipitado se lava con agua destilada y con ayuda de una centrifuga es separado, dejándose secar al ambiente.

- Pruebas catalíticas

De acuerdo a la literatura (Yanling Liang, 2013) las reacciones de epoxidación, se llevan a cabo con una cantidad estequiométrica de 1-10% mol del catalizador respecto a la olefina, con 1-2 equivalentes de agente oxidante, empleando como medio de reacción disolventes no polares.

La transformación de los reactivos en el producto deseado, fueron seguidas con ayuda de un cromatografo de gases Agilent Serie 6890, con una columna PE-5 No. De serie: 7509152 (Perkin Elmer), se inyectó $1.0\mu l$ de muestra a $280^\circ C$. Programa de temperatura: $50^\circ C \text{ min}^{-1}$ (2 min), $50-100^\circ C$, $50^\circ C \text{ min}^{-1}$, $100-150^\circ C \text{ min}^{-1}$, $150-200^\circ C \text{ min}^{-1}$ (2 min), 1.5 atm de presión para N_2 como gas portador. Se usó un detector de ionización de flama (FID, Flame Ionization Detector).

RESULTADOS

Se sintetizaron por precipitación tres diferentes hexacianocobaltatos $Ni_3[Co(CN)_6]_2$, $Co_3[Co(CN)_6]_2$, $Cu_3[Co(CN)_6]_2$, con ayuda de la técnica de FT-IR se caracterizaron, confirmando la formación de los diferentes materiales, lo cual se resume en la tabla 1.

Tabla 1 Asignación de bandas en la caracterización de los hexacianocobaltatos (Krap, 2010)

Vibraciones	Regiones de Vibración	Correspondencia
$\nu(OH)$	3500 cm^{-1}	Aguas coordinadas
$\nu(CN)$	2061 cm^{-1}	Movimiento degenerado
$\delta(HOH)$	$1670\text{-}1602\text{ cm}^{-1}$	Moléculas de agua enlazadas por puentes de hidrogeno

Se desarrollo el sistema catalitico en el que fue probada la oxidación del estireno, que emplea como agente oxidante el terbutil Hidroperoxido debido a las ventajas sobre otros oxidantes como el Iodosilbenceno, los peracidos, el peroxido de hidrogeno, entre otros. Esto debido a su bajo costo y alta disponibilidad. Aunado a esto, este agente oxidante fue facilmente manipulable a temperatura ambiente en condiciones normales de presion y temperatura. Arrojando altas conversiones en la formación del epoxido.

Tabla 2 Resultados de Eficiencia en la obtención de Oxido de Estireno

Catalizador	Alqueno	Oxidante	Tiempo de Reacción [h]	[%] Eficiencia
$Ni_3[Co(CN)_6]_2$	Estireno	t-BPH	5	50
$Co_3[Co(CN)_6]_2$			7	40
$Cu_3[Co(CN)_6]_2$			4	80

CONCLUSIONES

Se sintetizaron y caracterizaron los diferentes catalizadores, de entre los cuales el que mantiene mejores rendimientos es el hexacianocobaltato de cobre que muestra una efectividad superior frente a los otros metales de transición (Ni y Co).

El sistema catalítico probado mantiene ventajas tanto economicas como de manipulación de reactivos que desde el punto de vista de la quimica fina, permite considerar a este sistema como una alternativa para la alta producción de este importante intermediario de reacción.

BIBLIOGRAFÍA

- Alatorre, J., Cano, E., & Otero, R. (2009). Catálogo florístico de las plantas medicinales de la selva baja subcaducifolia de Acapulco México. *Boletín. Instituto de Estudios Giennenses*, 231-288.
- Altieri, M. (1999). *Agroecología Bases científicas para una agricultura sustentable*. Lima: Editorial Nordan-Comunidad.
- Alvarez, R. D.-T. (2011). Coordinating ability of anions and solvents towards transition metals and lanthanides. *Dalton Transactions*, 40, 10742.
- Alvarez, R. D.-T. (2011). Coordinating ability of anions and solvents towards transition metals and lanthanides. *Dalton Transactions*, 40, 10742.
- BANOBRAS. (2002). *PROGRAMA MUNICIPAL DE DESARROLLO URBANO DE ATLIXCO, PUEBLA*. ATLIXCO, PUEBLA.
- Bettencourt-Dias, A. d. (2014). *Luminescence of Lanthanide Ions in Coordination Compounds and Nanomaterials*. John Wiley & Sons.
- Bonnier, G., & De Layens, G. (1999). *Claves para la determinación de plantas vasculares*. Barcelona: Ediciones Omega, S.A.

8. Boyd, M. (1987). *Química Orgánica*. México: Pearson.
9. Calderón de Rzedowski, G., & Rzedowski, J. (2001). *Flora Faberogámica del Valle de México*. Pátzcuaro, Michoacán: Instituto de Ecología, A.C.
10. Callejas, C. M. (2006). *Flora Medicinal de San Bartolo Tutotepec, Hidalgo*. Pachuca de Soto, Hidalgo: UAEH.
11. Canales, M., & et al, .. (2006). Análisis cuantitativo del conocimiento tradicional de las plantas medicinales en San Rafael, Coxcatlán, valle de Tehuacán-Cuicatlán, Puebla, México. *Acta Botanica Mexicana*, 21-43.
12. Céspedes, M. (2005). *Agricultura Orgánica Principios y prácticas de producción*. Chillán: Instituto de Investigaciones Agropecuarias.
13. CIE 10, O. P. (2003). *CIE10, Clacificación Estadística Internacional de las Enfermedades y Problemas Relacionados con la Salud*. Ginebra: Ginebra,OMS 1992.
14. CONABIO, C. N. (2011). En CONABIO. Puebla, México: Gobierno del estado de Puebla.
15. CONABIO, C. N. (2011). Insectos de Puebla. En G. d. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, *La biodiversidad en Puebla. Estudio de Estado* (págs. 142-148). México.
16. CONABIO, C. N. (2012). Biodiversidad Mexicana. Recuperado el 4 de Diciembre de 2016, de Selvas Secas: <http://www.biodiversidad.gob.mx/ecosistemas/selvaSeca.html>
17. DGCS-UNAM. (14 de Julio de 2013). *Dirección general de comunicación social* . Obtenido de http://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2013_425.html
18. Duward F. Shriver, P. W. (1998). *Química inorgánica, Volumen 2*. Reverte.
19. Flores, J. S. (1995). *La contaminación y sus efectos en la salud y el ambiente*. México, D. F: Centro de Ecología y Desarrollo.
20. García, G. (2015). *Plantas medicinales de Aguascalientes*. México: Universidad Autónoma de Aguascalientes.
21. García, I., & Vázquez, B. (2002). *Catálogo de Plantas Medicinales del Hospital Integral con Medicina Tradicional de Coxcatlán*. Puebla: Gobierno del Estado de Puebla.
22. García, I., & Vázquez, B. (2002). *Catálogo de Plantas Medicinales de Plantas Medicinales del Hospital Integral con Medicina Tradicional de Huehuetla*. Puebla: Gobierno del Estado de Puebla.
23. García, I., & Vázquez, B. (2002). *Catálogo de Plantas Medicinales del Hospital Integral con Medicina Tradicional de Huehuetla*. Puebla: Gobierno del Estado de Puebla.
24. García, I., & Vázquez, B. (2002). *Catálogo de Plantas Medicinales del Hospital Integral con Medicina Tradicional de Tulcingo del Valle*. Puebla: Gobierno del Estado de Puebla.
25. Gómez, A., Gómez, L., Pulido, M. T., & Sánchez, S. (2015). *Catálogo de Plantas Medicinales y otros Usos de la Sierra Otomí-Tepesua Hidalgo*. Hidalgo: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

26. Gónzales, M., Lorena, L., Socorro, G. M., & Tena, J. A. (2014). *Plantas Medicinales del Estado de Durango y Zonas Aledañas*. México: Instituto Politécnico Nacional.
27. Guzmán Palma Jesús Antonio, R. R. (2015). *Determinacion de metales pesados en el grano de maiz (CB-052)*. Atitalaquia: -.
28. Hernández, T., Canales, M., Caballero, J., Durán, Á., & Lira, R. (2005). Análisi cuantitativo del conocimiento tradicional sobre plantas utilizadas para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales en Zapotitlán de las Salinas, Puebla, México. *Interciencia*, 17-27.
29. Hersch, M. P. (2009). La flora medicinal en comunidades indígenas. En S. d. Nación multicultural-UNAM, *Estado del desarrollo económico y social de los pueblos indígenas de Guerrero*. Mexico.
30. INAFED. (s.f.). *Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México*. Recuperado el 20 de Septiembre de 2016, de INAFED:
<http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM21puebla/municipios/21175a.html>
31. INEGI. (2009). *Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos Atlixco, Puebla*. Recuperado el 02 de Diciembre de 2016, de
<http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/datos-geograficos/21/21019.pdf>
32. IVHHN, L. R. (s.f). LOS PELIGROS DE LAS CENIZAS VOLCÁNICAS PARA LA SALUD .
33. Joby Sebastian, D. S. (2014). Effects of method of preparation on catalytic activity of Co-Zn double-metal cyanide catalysts for copolymerization of Co₂ and epoxide. *Applied A: General, General* 482, 300-308.
34. Krap, C. P. (2010). Nuevos materiales para almacenamiento de hidrogeno en nanocavidades. México.
35. Lagos, W. S., & et al. (2011). Manual de Herramientas Etnobotánicas relativas a la Conservación y el Uso Sostenible de los Recursos Vegetales. En L. Lagos, D. Sanabria, P. Chacón, & G. Randall, *Estrategia Global para la Conservación* (págs. 1-134). Chile: Red Latinoamericana de Botánica (RLB).
36. M. D. Allendorf, C. A. (2009). Luminescent metal–organic frameworks. *Chemical Society Reviews*, 38, 1330–1352.
37. Martínez, A., & et al. (2012). PLANTAS SILVESTRES ÚTILES Y PRIORITARIAS IDENTIFICADAS EN LA MIXTECA POBLANA, MÉXICO. *Acta Botánica Mexicana*, 73-98.
38. Martínez, G. (2007). Estudio etnobotánico en la comunidad de San Juan de los Ríos, Chiantla, Puebla. *Tesis de Licenciatura*.
39. Méndez, M. E., & et al. (2016). Flora medicinal. En *Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán* (págs. 349-352). Mérida: Yucatán.
40. Mendoza, H. (1985). *Guia Del Cultivo De Higuierilla*. Ecuador: INAP.
41. Métivier, P. (2000). Studies in Surface Science and Catalysis. 130, 167.
42. Mondragón, L. (2007). *Producción de jitomate en invernadero*. Estado de México, México: Gobierno del Estado de México. Secretaría de Desarrollo Agropecuario. Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria Acuícola y Forestal del Estado de México, ICAMEX.

43. Ortega, G. (Diciembre de 2009). *FAO*. Obtenido de <http://www.baseis.org.py/wp-content/uploads/2014/03/1395155082.pdf>
44. Pérez, P. M. (2009). Plantas medicinales: un complemento vital Para la salud. *Revista Digital Universitaria*, 1-9.
45. Rodriguez, M., Villaseñor, J. L., Coombes, A. J., & Ceron, A. B. (2014). *Flora del Estado de Puebla, México*. Mexico: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
46. Rzedowski, J. (1991). Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México. *Acta Botánica Mexicana*, 3-21.
47. SAGARPA. (Agosto de 2010). *SAGARPA*. Obtenido de <http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/documents/pablo/documentos/monografias/jitomate.pdf>
48. Sauve, S. H. (2000). *Solid- Solution Partitioning of Metals in Contaminated Soils: Dependence on pH, Total Metal Burden, and Organic Matter*. -: Environmental Science Technology.
49. Styring, S. (2012). Artificial photosynthesis for solar fuels. *Faraday Discussions*, 155, 357-376 .
50. Universidad Autónoma de Tlaxcala. (2011). *Catálogo Botánico Ilustrado de Tepetates en Tlaxcala*. Tlaxcala: Universidad Autónoma de Tlaxcala.
51. Valiente, I. (2011). *Inventario Etnobotánico en tres localidades de la Sierra Negra, Puebla*. Puebla: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
52. Villavicencio, M. A., & Pérez, B. E. (2013). *Plantas Medicinales del Estado de Hidalgo*. Pachuca de Soto: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
53. Wai-Kwok Wong, X. Y.-K. (2006). Multinuclear Luminescent Schiff-Base Zn–Nd Sandwich Complexes. *Inorganic Chemistry*, 45(11), 4340–4345.
54. Wei-Yu Bi, X.-Q. L.-L.-J.-R.-K. (2008). Synthesis, structure and near-infrared (NIR) luminescence of three solvent-induced pseudo-polymorphic complexes from a bimetallic Zn–Nd Schiff-base molecular unit. *Inorganic Chemistry Communications*, 11, 1316–1319.
55. Yanling Liang, C. Y. (2013). Prussian blue analogues as heterogeneous catalysts for epoxidation of styrene. *Royal Society of Chemistry*, 0, 1-3.
56. Zulueta, R., & et al. (Enero-Abril de 2006). ¿Es útil la flora de la selva baja caducifolia de México? *La ciencia y el hombre. Revista de divulgación científica y tecnológica de la Universidad Veracruzana*. Recuperado el 4 de Diciembre de 2016, de La ciencia y el hombre: <http://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol19num1/articulos/flora/>

DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE SAPONIFICACIÓN DE CREMAS DE LECHE COMERCIALES USANDO UN MÉTODO A PEQUEÑA ESCALA

Juan Antonio Rodríguez Arzave, Mario Alberto Hernández Torres, Martha Alicia Santoyo Sterphano, Edgar Allan Estrada Garza

Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. E-mail: jarzave@hotmail.com

RESUMEN

La crema es un derivado lácteo que aparece como una capa grasa en la superficie de la leche recién ordeñada cuando se deja reposar naturalmente un cierto tiempo. El producto posee coloración blanca o amarillenta y una textura agradable, características que, aunadas a la riqueza de su sabor, lo hacen un ingrediente esencial en diversos platillos. Se emplea mucho en repostería y en la preparación de salsas calientes y frías, así como, en la elaboración de recetas dulces o saladas. Posee un alto valor energético en virtud al elevado porcentaje de grasas saturadas y al aporte de proteínas y carbohidratos, lo que la hace un alimento inadecuado para la salud de las personas, dado que estos nutrientes pueden elevar los niveles de colesterol y triglicéridos en la sangre y causar diversas patologías. Dado que el contenido de grasa determina directamente su calidad y características, esta investigación se propuso determinar el índice de saponificación (IS) de cinco cremas comerciales con la finalidad de conocer el peso molecular de las grasas presentes en el producto lácteo, así como el de sus ácidos grasos constituyentes. La determinación analítica se realizó usando un micrométodo basado en la Norma Mexicana NMX-F-174-S-1981, el cual incluye ciertas innovaciones. Los IS determinados variaron en un intervalo entre 74.06 a 110.72 mg KOH/g. Estos datos señalan que los triglicéridos presentes en las cremas, poseen pesos moleculares promedio que oscilan entre 1,517 a 2,269 g/mol, mientras que los ácidos grasos constituyentes presentan pesos moleculares promedio entre 506 a 756 g/mol.

INTRODUCCIÓN

La leche es una mezcla heterogénea que consiste principalmente de agua en un 87.2% y un 12.80% de materia seca; de ésta, la grasa representa el 3.7% y se encuentra emulsificada en forma de glóbulos, las proteínas constituyen el 3.50% siendo la caseína la principal proteína y aparece en estado coloidal asociada con algunos minerales, la lactosa representa el 4.90% y cenizas el 0.70% (Kajal *et al*, 2012; Mehta, 2015). La composición química descrita hace de la leche un alimento excelente con muchas virtudes nutrimentales (Badui Dergal, 2015; Silva-Hernández *et al*, 2007). Existen una gran variedad de leches obtenidas de diferentes especies de mamíferos, las cuales poseen diferente composición química, olor y sabor; sin embargo, todas ellas contienen los elementos necesarios para el mantenimiento y desarrollo de las crías (Awan *et al*, 2014).

El procesamiento de la leche ha dado lugar a la manufactura de una enorme variedad de productos lácteos, los cuales difieren de un lugar a otro por su adecuación a las condiciones locales y a los recursos disponibles; entre ellos destacan las leches fermentadas como el yogur y el queso, las leches concentradas, las leches en polvo, productos desecados por calor, productos ácidos coagulados térmicamente, los helados, la cajeta y los productos lácteos ricos en grasa como el ghee, la mantequilla y la crema (Badui-Dergal, 2015; Gil, A. 2010; Mehta, 2015). Aunque la versatilidad es enorme, los productos lácteos exhiben diferencias notables en la composición de sus nutrientes, particularmente en lo referente al contenido de agua, proteínas y grasa (Gil, A. 2010).

La grasa de la leche juega un papel determinante en las propiedades físicas, sabor y valor nutricional de los productos lácteos (Aklain *et al*, 2006). En un 97% los lípidos de la leche son triglicéridos, el resto son diglicéridos, monoacilglicéridos, ácidos grasos libres, colesterol, fosfolípidos y vitaminas liposolubles. Los triglicéridos están constituidos en un 67.5% de ácidos grasos saturados, 24.5% ácidos grasos monoinsaturados, 4% ácidos grasos poliinsaturados y un 4% ácidos grasos de cadena ramificada. Entre los ácidos grasos saturados presentes se encuentran el ácido palmítico, el ácido esteárico, ácidos grasos de cadena corta y ácidos grasos de cadena larga (Falder-Rivero, 2003). Entre los ácidos grasos insaturados se han detectado el ácido linoleico y el araquidónico (Akalin, 2006).

La crema es un derivado lácteo que se obtiene por concentración natural o inducida de la materia de grasa y aparece como una capa flotante en la superficie de la leche recién ordeñada (Falder-Rivero, 2003). Este producto posee coloración blanca o amarillenta y una textura agradable, características que, aunadas a la riqueza de su sabor, lo hacen un ingrediente esencial tanto en repostería como en la preparación de una gran variedad de platillos. Por ello, en el mercado se distribuyen cremas en diferentes presentaciones con variados contenidos grasos y distintas texturas, comercializándose como productos en presentación líquida, más o menos viscosa, e incluso con aire inyectado y cuando esto sucede, se la conoce como nata montada (Díaz-Yubero, 2013). En la cocina mexicana, debido a su versatilidad, la crema se utiliza en la preparación de platillos dulces, salados fríos o calientes (Revista del consumidor, 2011).

En México, la normatividad vigente establece que la crema debe cumplir ciertos criterios de calidad como son: un porcentaje mínimo de grasa butírica entre 25.0 y 29.9%, un 1.8% de proteína (NOM-193-SCFI-2014), así como tener una acidez titulable no menor a 0.5% expresada como ácido láctico (NOM-243-SSA1-2010). Sin embargo, no considera parámetros químicos como el Índice saponificación y el Índice de yodo entre otros.

El índice de saponificación (IS) es expresado como el número de miligramos de KOH requeridos para saponificar los ácidos grasos libres y combinados, presentes en un gramo de grasa y ofrece una medida del peso molecular promedio de los triglicéridos que constituye la grasa (Chatterjea and Shinde, 2012; Nielsen, 2003). Las grasas que contienen ácidos grasos de cadena corta consumen más KOH en su saponificación mostrando IS más grandes y las que poseen ácidos grasos de cadena larga consumen menos álcali exhibiendo valores pequeños de Índice de saponificación (Chatterjea and Shinde, 2012).

Tomando en consideración que, en la reacción de saponificación, un mol de grasa reacciona con tres moles de KOH, cada mol de grasa consumirá 168,000 mg de KOH, por lo tanto, el IS de una grasa = $168,000/\text{Peso Molecular de la grasa}$. Es decir, el Índice de saponificación de una grasa es inversamente proporcional a su peso molecular (Bahl, 2004). Al dividir por 3 el peso molecular promedio de una grasa se obtiene el peso molecular promedio de los ácidos grasos que contiene (Nielsen, 2003).

Esta investigación fue emprendida con la finalidad de determinar el Índice de Saponificación de cremas de leche para consumo directo que se comercializan en la zona metropolitana de Monterrey, y con esta información conocer el peso molecular promedio de los ácidos grasos y el de sus ácidos grasos constituyentes. Para cumplir con este propósito se utilizó un método adaptado a nivel microescala basado en la Norma Mexicana NMX-F-174-S-1981 (Saucedo Jasso, 2013).

PARTE EXPERIMENTAL

Muestra de trabajo

La muestra de estudio estuvo integrada por cinco cremas de leche comerciales, tres regulares y dos light, las cuales se recolectaron mediante un muestreo aleatorio en tiendas de autoservicio ubicadas en las ciudades de Monterrey y San Nicolás de los Garza, Nuevo León. Las cremas regulares que se adquirieron fueron: Norteña en frasco de vidrio de 450 mL, Lala en tazón plástico de 450 mL y Crema Alpura Premium en tazón plástico de 900 mL. Las dos cremas light se consiguieron en recipientes de plástico con contenido de 450 mL y correspondieron a las marcas Lala light y Alpura reducida en grasa.

Micrométodo para la Determinación del Índice de Saponificación

En un matraz redondo de fondo plano de 10 mL marca Provitec PVT-MEC-0001 se pesaron 0.5 gramos de la muestra, con precisión de 0.0001 g usando una balanza analítica Velab VE-204. Con una pipeta marca Trasferpette® S, se agregaron 5 mL de la solución alcohólica de Hidróxido de potasio 0.71N. El matraz se acopló a un refrigerante para reflujo marca Provitec PVT-MEC-0015 y se preparó un sistema múltiple ensamblando 8 unidades para reflujo a microescala conectados en serie y dispuestas en forma circular. Se montaron dos de estas unidades y se conectaron apropiadamente con mangueras de látex. El sistema completo se conectó con mangueras a una bomba de reciclaje de agua dispuesta en el interior de un recipiente metálico galvanizado conteniendo agua y hielo. La bomba fue encendida para suministrar agua fría a los refrigerantes. Enseguida, el conjunto de matraces se colocó sobre un par de parrillas eléctricas con disco calefactor marca Taurus modelo Ares y se aplicó calor, manteniendo el reflujo durante 60 minutos. Al término de ese lapso, se apagaron y

retiraron las parrillas de calentamiento y se permitió fluir el agua fría durante 5 minutos adicionales para el enfriamiento total del sistema. Una vez transcurrido el tiempo establecido, los matraces fueron retirados y en su interior se colocó una barra magnética de 10 mm x 3 mm marca Spinbar y se añadieron 2 gotas de fenolftaleína al 0.1% p/v. El KOH residual se tituló contra una solución valorada de HCl 0.5 N dispuesta en una microbureta para titulometría (Baeza, 2003). El punto final de la titulación se detectó cuando el color de la solución viró del rosa al color inicial de la muestra en solución. Se realizaron doce ensayos para cada muestra.

Se corrió un ensayo como blanco sometiendo 5 mL de la solución etanólica de Hidróxido de potasio 0.71 N al procedimiento descrito, realizando cuatro repeticiones. Con los datos de ambas titulaciones se calculó el Índice de saponificación, aplicando la siguiente ecuación:

$$\text{Índice de Saponificación} = \frac{(A - B) (N) (56.11)}{(m)} \quad (1)$$

donde:

A: Volumen de solución de HCl gastados en la titulación del blanco

B: Volumen de solución de HCl gastados en la titulación de la muestra

N: Normalidad de la solución del HCl estandarizado

56.11: equivalentes de KOH

m: masa de la muestra en gramos

RESULTADOS

En la cocina mexicana la crema de leche es un alimento versátil que se utiliza como ingrediente de diversas recetas o para decorar platillos ya elaborados, sean dulces o salados. Es un alimento hipercalórico por su contenido de grasa, proteínas y carbohidratos. La normatividad vigente señala ciertos parámetros como criterios de calidad de este producto, sin embargo, la determinación del Índice saponificación o del Índice de yodo abonarían a un conocimiento integral sobre la calidad de este derivado lácteo.

El método a microescala utilizado en esta investigación, ha sido adaptado y validado en nuestro laboratorio a partir de la Norma Mexicana NMX-F-174-S-1981, para la determinación del IS en aceites comestibles. Sin embargo, los resultados obtenidos con la aplicación de esta técnica, indican que el procedimiento mostró ser efectivo también para la determinación del Índice de saponificación de las cremas de leche analizadas.

La estadística descriptiva de los datos obtenidos se presenta en la Tabla 1, en ella se observa que los Índices de saponificación variaron entre 74.06 para la crema Lala light hasta 110.72 para la crema Lala; las desviaciones estándar para todos los registros fueron inferiores a 4.54, en tanto que, los coeficientes de variación mostraron un valor máximo de 4.10, lo que indica una aceptable reproducibilidad del micrométodo utilizado para la determinación analítica. Los datos registrados señalan que los triglicéridos presentes en las cremas, poseen pesos moleculares promedio que oscilan entre 1,517 a 2,269 g/mol, mientras que los ácidos grasos constituyentes presentan pesos moleculares promedio entre 506 a 756 g/mol.

Tabla 1. Estadística descriptiva de los registros obtenidos durante la determinación del Índice de Saponificación de cremas lácteas.

Marca del producto	n	Índice de saponificación promedio	Desviación estándar	Coefficiente de variación
Alpura premium	11	95.87	1.76	1.84
Alpura light	12	78.98	2.66	3.37
Lala	11	110.72	4.54	4.10
Lala light	11	74.06	3.04	4.10
Norteñita	12	92.11	3.08	3.34

El estudio estadístico aplicado a los registros incluyó la prueba de Kolmogorov Smirnov la cual indicó que para las cinco muestras de crema analizadas, los valores de Índice de saponificación determinados en su análisis se distribuyeron normalmente.

El análisis de varianza (ANOVA) aplicado a estos datos reveló una alta diferencia significativa ($F=239.159$, $p<0.01$) entre los Índices de saponificación exhibidos por las cremas. La prueba de Tukey señaló que sólo todas las cremas incluidas en el estudio son estadísticamente diferentes ($p>0.05$).

CONCLUSIONES

En este estudio, los Índices de saponificación mostrados por las cinco muestras de cremas comerciales analizadas, variaron en un intervalo entre 74.06 a 110.72 mg KOH/g. Esta información revela que los triglicéridos presentes, poseen pesos moleculares promedio que oscilan entre 1,517 a 2,269 g/mol, mientras que los ácidos grasos constituyentes presentan pesos moleculares promedio entre 506 a 756 g/mol. Con lo cual se tiene un mayor conocimiento de la naturaleza de los componentes que conforman este producto lácteo.

El micrométodo empleado mostró ser apropiado para la determinación del Índice de saponificación de cremas lácteas en virtud a que los datos generados exhibieron desviaciones estándar y coeficientes de variación que reflejan una precisión aceptable.

BIBLIOGRAFÍA

1. Akalin, A. S., Gönc, Ünal, G. and Ökten, S. (2006). Determination of some chemical and microbiological characteristic of Kaymak. *Grasas y Aceites*. 57(4):429-432.
2. Awan, A., Naseer, M., Iqbal, A., Ali, M., Iqbal, R. and Iqbal, F. (2014). A study on chemical composition and detection of chemical adulteration in tetra pack milk samples commercially available in Multan. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 27(1):183-186.
3. Badui-Dergal, S. (2015). *La Ciencia de los alimentos en la Práctica*. México: Pearson Educación.
4. Baeza, Microbureta a microescala total para titulometría. *Revista Chilena de Educación Científica*, Vol.1, 2, 2003, pp. 4-7.
5. Bahl, Organic Chemistry for Competitive Examination. First Edition. S. Chand & Company LTD, (2004), pp. 382-383.
6. M. N. Chaterjea., R. Shinde Textbook of Medical Biochemistry. Eighth Edition. Jaypee Brothers Medical Publishers, (2012). pp. 54-55.
7. Díaz-Yubero, I. (2013): Leche y productos Lácteos. *Distribución y Consumo*, (126), 58-66.
8. Fálder-Rivero, A. (2003): Leche y productos Lácteos. *Distribución y Consumo*, (67), 117-133.
9. Gil, A. (2010). *Tratado de Nutrición. Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos*. Madrid: Panamericana.
10. Kajal, M.F.I., Wadud, A., Islam, M.N. and Sarma, P.K. (2012). Evaluation of some chemical parameters of powder milk available in Mymensingh town. *Journal of the Bangladesh Agricultural University*. 10(1):95-100.

11. Mehta, B.M. (2015). Chemical Composition of Milk and Milk Products. En P.C.K. Cheung y B.M. Mehta (Eds.), *Handbook of Food Chemistry* (pp. 511-553). Heidelberg, Alemania: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
12. Nielsen, S. S. (2003). *Análisis de los alimentos*. Zaragoza, España: Acribia.
13. NMX-F-174-S-1981. Alimentos para humanos. Determinación del Índice de Saponificación en Aceites y Grasas Vegetales o Animales. Foods for Humans. Determination of the Saponification Index in Oils and Vegetal or Animal Fats. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
14. NOM-243-SSA1-2010, Productos y Servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivado de lácteos. Disposiciones y Especificaciones Sanitarias. Métodos de prueba.
15. NOM-193-SCFI-2014, Crema-Denominaciones, especificaciones, información comercial y métodos de prueba.
16. Revista del Consumidor. (2011). Estudio de Calidad de Cremas. Procuraduría Federal del Consumidor. Secretaría de Economía, México.
17. Saucedo Jasso, L.E. Adaptación a nivel microescala del método para la Determinación del Índice de Saponificación en aceites y grasas comestibles. (2013), Tesis, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. México.
18. Silva-Hernández, E. R., Suárez-Jácome, M.M., Herrera-Lee, R.G., Nakano, T., Ozimek, L. y Verdalet-Guzmán, I. (2007). Alto contenido de ácido linoléico conjugado (CLA) en leche y productos derivados al incorporar semillas de girasol a la dieta vacuna. Implicaciones sobre el riesgo trombo/aterogénico. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 57(2):173-178.

DETERMINACIÓN DE ZINC EN PRODUCTOS NATURALES PARA EL CONTROL DE LA DIABETES MELLITUS

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

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. issolo2015@yahoo.com

RESUMEN

La diabetes es un padecimiento que presenta una sintomatología que se caracteriza por poliuria, polidipsia, polifagia y pérdida de peso, todos ellos derivados de la hiperglucemia; es la condición en la que el cuerpo no procesa adecuadamente los alimentos para su uso como energía. La mayoría de los alimentos que comemos se convierten en glucosa o azúcar, para que nuestros cuerpos lo utilicen como energía.

A través de la orina se pierde agua, Na, K, Zn, etc. siendo esta la causante en la mayoría de los casos de deshidratación debido al aumento de sed y a la ingesta de líquidos (polidipsia), con la pérdida del zinc se desencadena una serie de alteraciones en el papel que desempeña la glucosa, debido a que el zinc puede incrementar la absorción de esta en las células hepáticas porque es el cofactor para síntesis y activación de insulina.

Es necesario buscar fuentes alternativas para la obtención de minerales como el Zinc, una de las opciones más difundidas de manera popular a través de los medios de comunicación, internet y las redes sociales son los productos naturales, dentro de este grupo los más sugeridos son el nopal, ajo, cebolla, canela, guayaba o melón, entre otros.

INTRODUCCION

La presente investigación tiene como fin analizar y determinar la concentración de Zinc en diferentes productos empleados para el tratamiento de la Diabetes tipo II por medio de la técnica de Espectroscopia de Absorción Atómica (EAA) debido a que este mineral puede influenciar las propiedades antigénicas de la insulina e incrementar la unión de la insulina a las células hepáticas es importante mantener un nivel adecuado de zinc en el organismo, de lo contrario el metabolismo anormal o la deficiencia del zinc podría ser causa principal en la Diabetes Mellitus, la cual se caracteriza por una desmineralización en el organismo y podría ser combatida mediante el consumo de productos naturales los cuales son empleados para la obtención de Zinc y con esto re-mineralizar el organismo.

Uno de los síndromes que más aquejan a nuestra sociedad actualmente, es la Diabetes Mellitus, se conocen diversos factores los cuales nos pueden hacernos más vulnerables a dicho síndrome, en este trabajo proponemos la pérdida de minerales, principalmente por la orina.

La creación y desarrollo de medicamentos para el tratamiento de esta enfermedad no se han hecho esperar, así como la utilización de productos naturales para regularla.

La problemática de los medicamentos es su costo, el cual es difícil de solventar para una gran parte de la población, así surge el interés de analizar los medicamentos empleados y los alimentos comúnmente utilizados para tratar este síndrome y ver si en realidad los "*Productos Naturales*" contienen concentración de Zinc considerable que nos pueda apoyar esta hipótesis en el tratamiento contra la Diabetes Mellitus.

El Zn es uno de los elementos esenciales más abundantes en el cuerpo humano y al ser un ion intracelular se encuentra en su mayoría en el citosol. Su cantidad en el individuo adulto oscila entre 1 y 2,5 g, siendo el segundo oligoelemento en relación a la cantidad total en el organismo, siendo superado tan sólo por el hierro. Las concentraciones más elevadas aparecen en el hígado, páncreas, riñones, huesos y músculos voluntarios, existiendo también concentraciones importantes en el ojo, próstata, espermatozoides, piel, pelo y uñas.

La esencialidad del Zinc está dada por papeles insustituibles relacionados principalmente con sistemas enzimáticos de los procesos de división y multiplicación celular y con los sistemas metabólico-hormonales de regulación. Además, está ampliamente demostrado que la deficiencia nutricional de Zn puede llevar a signos clínicos de enfermedad, los cuales mejoran con la normalización de nutrición de Zinc. Las principales causas de las carencias de Zinc son: depósitos reducidos al nacer (prematuridad, bajo peso de nacimiento), aportes

inadecuados (deficiencia y/o baja disponibilidad de estos minerales en la dieta), aumento de los requerimientos (crecimiento, embarazo) y pérdidas aumentadas. Las modificaciones y/o diversificaciones de la dieta, la fortificación de alimentos y la suplementación son las principales estrategias utilizadas para prevenir las deficiencias de nutrientes.

Algunos de los alimentos consumidos en la dieta mexicana como productos naturales para el tratamiento de la diabetes Mellitus son:

Nopal. - Regula la glucosa en la sangre de pacientes de diabéticos debido a sus componentes (Tabla 1). Los 18 aminoácidos presentes en el nopal proveen más energía y reducen la fatiga ayudando a reducir el nivel de glucosa en la sangre. El nopal refuerza al hígado y al páncreas por incrementar la sensibilidad a la insulina, la que estimula el movimiento de la glucosa en las células del cuerpo donde es usada como energía, regulando así, el nivel de glucosa de la sangre. También facilita metabolismo de carbohidratos por lo que reduce la necesidad de insulina.

Canela. - Uno de los mayores beneficios de la canela es su utilización en pacientes con diabetes tipo 2 debido a sus componentes (Tabla 2), una patología que se produce cuando el cuerpo deja de reaccionar normalmente al aumento de insulina, que se produce naturalmente en el cuerpo luego de las comidas (sobre todo si son dulces). El consumo de canela, sobre todo en ayunas y luego de las comidas, ayuda a reducir los niveles de glucosa en sangre, gracias a su compuesto B1 cinnamtannin. Estudios realizados han demostrado que este compuesto estimula los receptores de insulina e inhibe una enzima que los inactiva, aumentando de esta manera la capacidad de las células para el uso de la glucosa.

Guayaba. - El fruto de la guayaba y sus hojas contienen, al menos, 13 sustancias contra la diabetes (Tabla 3). Sus hojas se utilizan en tè para tartar la diabetes. Un estudio científico ha demostrado que el zumo natural de guayaba ayuda a tratar la diabetes.

Ajo. - produce una sustancia química llamada alicina. Esta parece ser la que hace que el ajo funcione para el tratamiento de ciertas afecciones. En la literatura no se encuentra reportado que tenga concentración de Zinc y por consecuencia no se encontró una evidencia verídica de que ayude al tratamiento de la diabetes, sin embargo, en el análisis realizado, es el alimento con mayor concentración de Zinc.

Cebolla. - La cebolla y más en concreto la glucoquinina que contiene y a la que se conoce como la insulina vegetal. Ayuda a reducir el exceso de glucosa en la sangre por lo que el consumo no sólo previene la diabetes, sino que es un excelente alimento para quienes ya padecen la enfermedad.

Melón. - En la literatura no se encuentra nada reportado acerca del melón específicamente en concentraciones de Zinc o en el tratamiento de la diabetes, a pesar de ello, los resultados al analizarlo son favorables.

NORMATIVIDAD

La Norma Oficial que se encarga de la metodología para la determinación de Zinc en alimentos es la NOM-117-SSA1-1994 que estipula que la determinación de dicho metal se realice mediante la Espectroscopia de Absorción Atómica.

ABSORCIÓN ATÓMICA

El método de absorción atómica se basa en hacer pasar un haz de luz monocromática de una frecuencia tal que puede ser absorbido por el analito que se encuentra presente en forma de vapor atómico. La medida de la intensidad luminosa antes y después de su paso por el vapor atómico permite determinar el porcentaje de absorción.

La cantidad de absorción aumenta con la concentración de los átomos en el medio absorbente, es decir, la medida de la absorción aumenta con la concentración del elemento en la muestra, ya sea que esté en su condición original o sujeta a pretratamiento.

PARTE EXPERIMENTAL

MUESTRAS A ANALIZAR

Muestra 1	Nopal
Muestra 2	Canela
Muestra 3	Guayaba
Muestra 4	Ajo
Muestra 5	Cebolla
Muestra 6	Melón

Tabla 1. Muestras a analizar

METODOLOGIA

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

En la Norma NOM-117-SSA1-1994 se manejan dos métodos para la digestión mediante los cuales es posible determinar Cd, Cu, Fe, Pb y Zn.

Digestión húmeda.

Según la norma se debe pesar como máximo 40 g de jugo o bebida, 20 g de alimentos que contengan del 50 al 75% de agua y 10 g de alimentos sólidos o semisólidos. Se limita el contenido de grasa o aceite a un máximo de 4 g y el total de materia orgánica a 5 g.

Se añaden 10 ml de ácido nítrico concentrado y se deja reposar toda la noche o se puede iniciar directamente la digestión. Se usa matraz de Kjeldhal o matraz conectado al sistema de refrigerantes. Posteriormente, se calienta suavemente, digerir la muestra el tiempo necesario (algunas muestras requieren la adición de mayor cantidad de ácido nítrico) hasta la aparición del color traslúcido, si queda ámbar, se adiciona peróxido de hidrógeno gota a gota con agitación continua (reacción exotérmica). Por último, se enfría, recupera, filtra y se lleva a un volumen conocido en matraz volumétrico. Se corre un blanco de reactivos y muestra fortificada por cada serie de digestión.

Digestión seca.

Según la norma se debe pesar como máximo 40 g de jugo o bebida, 20 g de alimentos que contengan del 50 al 75% de agua y 10 g de alimentos sólidos y semisólidos. Se limita el contenido de grasa o aceite a un máximo de 4 g y el total de materia orgánica a 5 g.

En productos con alta concentración de proteínas se adiciona una solución de nitrato de magnesio al 7,0% p/v y se mezcla completamente, se lleva a sequedad aproximadamente durante 6 horas en estufa a una temperatura de 90 a 95°C. Se coloca la muestra en una mufla y se eleva la temperatura lentamente de 2 a 4°C por minuto hasta 350°C. Se mantiene la temperatura hasta que cesen los humos.

Un segundo paso de calcinación puede ser requerido para remover algunos residuos de carbón, mediante el siguiente procedimiento: se lavan las paredes del crisol con 2 ml de ácido nítrico al 50%, colocar la muestra en una placa de calentamiento puesta a 120°C para remover el exceso de ácido.

Se coloca la muestra en una mufla fría y se eleva la temperatura gradualmente hasta 500°C, manteniéndola por el tiempo necesario. Se repite este procedimiento cuantas veces sea necesario hasta que quede libre de carbón remanente. Por último, se disuelve las cenizas completamente en 5 ml de ácido clorhídrico 1N, se transfiere la muestra disuelta a un tubo de propileno o a un matraz de volumen conocido, se enjuaga el crisol con dos alícuotas de 5 ml de ácido clorhídrico 1 N y se transfiere al mismo tubo o matraz para obtener un volumen de 15 ml en el primero y se lleva al aforo en el segundo, se tapa y mezcla.

Si existe presencia de partículas o materia insoluble, se filtra en papel Whatman No. 2, antes de la determinación. Se corre un blanco de reactivos y muestra cada serie de digestión.

Nota: El tratamiento del melón requirió mayor cuidado ya que se perdió más del 95% de muestra y lo poco que nos quedó fue difícil manipular porque toma una consistencia muy viscosa y pegajosa.

RESULTADOS

Concentración (ppm)	Absorbancia	Absorbancia	Absorbancia	Promedio de Absorbancia
---------------------	-------------	-------------	-------------	-------------------------

	1	2	3	
0.25	0.245	0.232	0.239	0.238
0.5	0.322	0.385	0.448	0.385
1	0.844	0.553	0.699	0.698

Tabla 2. Concentración de estándares, absorbancias y promedio de absorbancias de patrones.

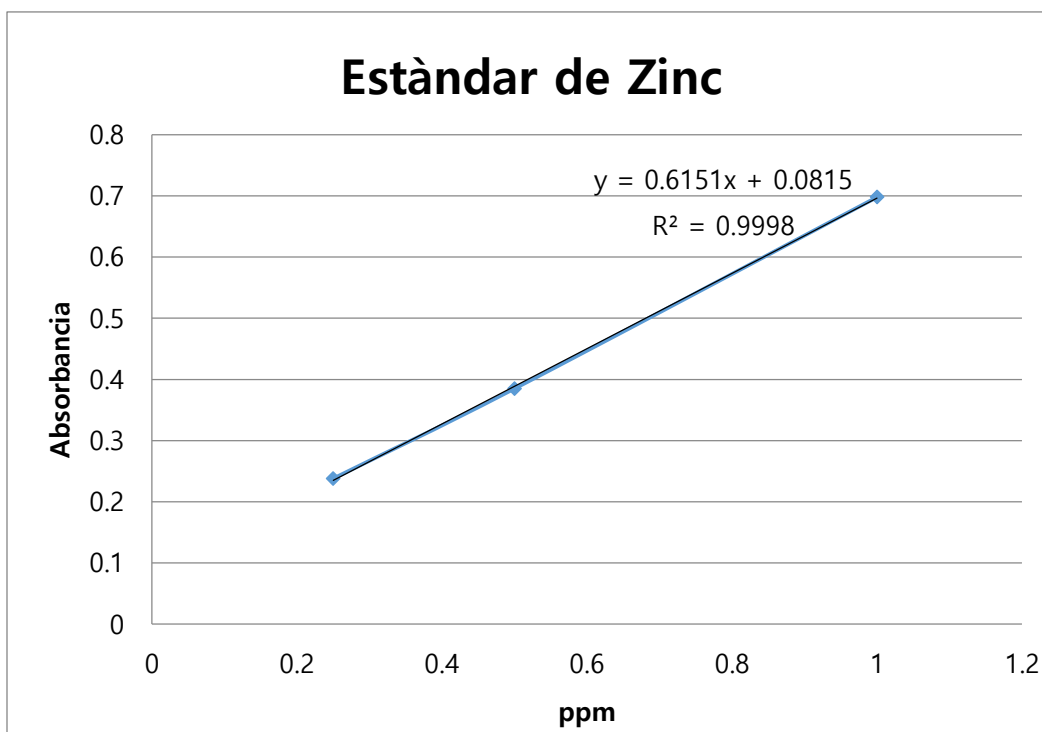


Figura 1. Curva de calibración.

Las muestras tratadas por medio del procedimiento de digestión por vía seca según la NOM-117-SSA1-1994, son:

Muestra	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3	Promedio de Absorbancias	Concentración (ppm)
Canela	0.287	0.258	0.228	0.257	0.125
Guayaba	0.248	0.238	0.226	0.237	0.105
Nopal	0.255	0.241	0.228	0.241	0.109
Cebolla	0.247	0.238	0.230	0.238	0.106
Ajo	0.358	0.297	0.237	0.297	0.165
Melón	0.240	0.238	0.234	0.237	0.105

Tabla 3. Absorbancias, promedio de absorbancias y concentración obtenidas de Zinc en cada muestra.

Todas las muestras de productos naturales analizados contienen al mineral Zinc, las concentraciones del mismo son menores comparadas con los niveles de Zinc en alimentos), esto se puede atribuir a distintos factores, entre

ellos a las condiciones en que se llevó a cabo el análisis, el tipo de muestra, la cantidad de muestra, la temperatura en el lugar que se llevó el análisis e incluso la biosfera en que se analizó. A pesar de que las concentraciones no son muy altas, se puede tener un mayor beneficio si se consumen de manera constante y además de combinar los alimentos de forma que se tenga variabilidad en la dieta diaria.

CONCLUSIONES

Se determinó la concentración de Zinc a través del uso del espectrofotómetro de Absorción Atómica por vía ácida de acuerdo a la Norma NOM-117-SSA1-1994 en cebolla, nopal, melón, guayaba, ajo y canela.

Se cuantificó una mayor concentración de Zinc en las muestras de ajo, con las condiciones que se requieren para su análisis, por otro lado, se cuantificó una menor concentración de Zinc en las muestras de melón analizadas a las mismas condiciones.

Se observó que el tratamiento por digestión seca en las muestras de melón, se complica debido a la pérdida de muestra y a la consistencia que toma la misma.

Se proponen como métodos preventivos los productos naturales analizados con los cuales se estará remineralizando continuamente el organismo, ya que todos presentan concentración de Zinc.

BIBLIOGRAFÍA

1. Díaz-Gómez NM, Domenech E, Barroso F, Castells S. The Effect of Zinc Supplementation of Linear Growth body composition. 2003, III: 1002-9
2. Boticario B. C. y Calvo B. S. (2012). Nutrición y Dietética II Aspectos Clínicos. España. Ediciones UNED
3. Capano G. terapias verdes contra la diabetes. Navona, 2013. ISBN 9788415612216
4. Fossas, F, alimentación y estilo de vida para prevenir y controlar la enfermedad, pp. 125. España 2012 ISBN 9788415541110
5. Fossas F. remedios naturales para la diabetes, rba libros, pp115 Madrid 2012 ISBN 9788415541110
6. Francesc J. Fossas Illusa como cura la cebolla, rba libros, pp. 520. España 2012, ISBN 9788415541516.
- 7.-Ghb, J. canela. en beneficios de la canela para la salud. (2013)
j.landon. onion a "real" curative food. review almanaque discovery health. pp127 (2007) usa
8. López de Romaña D. El zinc en la salud humana-i. revista chilena de nutrición, pp. 234-239. c.c. (2010).
9. Olivares G. M.; Castillo D. C.; Arredondo O. M., et al. cobre y zinc en nutrición humana, pp. 982-994. [versión electrónica]. 2014 unam. Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. (2009)

PROMOTORES INDUCIBLES EN BACTERIAS

Cuahtémoc Solano Pérez, Yazmín Hernández Díaz, Ana del Carmen Jiménez López, Dalila Rubí Mena Hernández, Yahaira Karina González Hernández, Gerardo Daniel Amézquita Hernández, y Víctor Manuel Arias López

División Académica Multidisciplinaria de Jalpa de Méndez. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

RESUMEN

Las bacterias se encuentran entre los microorganismos más estudiados por su importancia en la agricultura, salud, ecología y en la industria. Si bien algunas son responsables de causar enfermedades, la mayoría nos proveen muchos beneficios. Debido a lo anterior, este grupo de microorganismos es objeto de manipulaciones genéticas que permiten explotar sus cualidades para nuestro beneficio y el del entorno. La región promotora de los genes regula el inicio de la transcripción, el cual es necesario para la expresión de estos, por lo tanto, hoy en día se han seleccionado promotores inducibles que permiten regular la expresión del gen de interés bajo las condiciones necesarias para un control adecuado de la expresión, obteniendo así la proteína de interés. Con el fin de que el investigador disponga de datos recopilados que le ayuden a expresar genes en bacterias bajo la regulación de un promotor inducible, hemos analizado los promotores más empleados en bacterias incluyendo aquellos regulados por la presencia de antibióticos, la luz, la radiación entre otros factores. Los datos proporcionados serán de utilidad para el diseño o mejora de sistemas de expresión en bacterias.

INTRODUCCIÓN

El promotor es una región esencial para la transcripción de los genes, esta presenta una región regulatoria y es reconocida por la ARN polimerasa. Funcionalmente, un promotor es una secuencia de ADN localizada "upstream" o "aguas arriba" (hacia el extremo 5' de la región codificante de un gen) que incluye las regiones de enlazamiento para factores de transcripción (Potenza et al., 2004). Sin embargo, existen secuencias de ADN dentro de una región promotora que actúan como sitios de unión para factores de transcripción que pueden activar o inhibir la transcripción de un gen. De esta forma un promotor incluye distintos elementos estructurales que pueden tener interacciones funcionales complejas (De Guglielmo & Fernández, 2016).

Por su parte los promotores inducibles pueden ser activados en respuesta a diferentes estímulos, incluyendo señales endógenas, factores físicos y químicos externos, bajo condiciones experimentales controladas (De Guglielmo & Fernández, 2016). Los promotores inducibles por estímulo químico son activados por compuestos químicos que no se encuentran naturalmente en el organismo de interés, incluyendo antibióticos, alcoholes, esteroides, y metales como el cobre, entre otros. Estos promotores han sido adaptados y refinados para inducir la actividad de un gen independientemente de otros factores bióticos o abióticos. Su efecto es reversible (pierden actividad en ausencia del estímulo) y son muy útiles cuando se requiere expresión temporal (Gatz & Lenk, 1998).

Este tipo de promotores tienen grandes aplicaciones biotecnológicas ya que presentan ventajas como el control espacial y temporal más preciso de la expresión transgénica y permite analizar la función de nuevos genes. Además, los sistemas inducibles facilitan promover cambios locales en los niveles de expresión sin causar alteraciones marcadas en el desarrollo del organismo completo. También son de gran interés en ingeniería genética, ya que los genes que regulan pueden activarse o desactivarse en determinadas etapas del desarrollo de un organismo o tejido en particular (Rodríguez, 2004).

PARTE EXPERIMENTAL

Estrategia de búsqueda e identificación de los estudios

Se realizó una búsqueda exhaustiva en bases de datos electrónicas incluyendo PubMed y EBSCO para identificar publicaciones relevantes de promotores inducibles en bacterias, con la última búsqueda actualizada hasta el 05 de Febrero de 2017.

Criterios de inclusión y exclusión

Los criterios de inclusión fueron: (1) trabajos en los que se evaluaba la funcionalidad de los promotores inducibles en bacterias (2) estudios publicados en revistas indexadas y (3) artículos publicados en inglés. Los criterios de exclusión fueron: (1) publicaciones duplicadas; (2) los resúmenes, comentarios y opiniones y (4) la insuficiencia de datos reportados.

Extracción de datos

La siguiente información se extrajo cuidadosamente por los mismos autores: autores, año de publicación, bacteria en la que se evalúa el promotor, nombre del gen que regula, nombre del promotor inducible, molécula inductora y molécula represora.

RESULTADOS

Nuestro trabajo recopiló algunos de los promotores inducibles que se han caracterizado en bacterias (**Tabla 1**). El promotor *Pssb* de *Deinococcus radioduran* (Gram positiva) puede tolerar altas dosis de radiación ionizante, hasta 15 kGy y exhibe una alta expresión de genes inducidos por radiación, por lo tanto el *Pssb* parece ser un gran candidato para ser usado en biorremediación al ser útil para la gestión de desechos radiactivos en los lugares de almacenamiento, las instalaciones nucleares y los tanques de almacenamiento de residuos. Este promotor es inducible y reprimible con base a los niveles de radiación.

Otros promotores son inducidos por carbohidratos como lo son *PmalE1* y *Pgit1* de *Corynebacterium glutamicum* y *PxylA* y *PlacA* de *Bacillus megaterium* y *Lactobacillus plantarum* respectivamente. Estas bacterias son de gran importancia en la industria de la alimentación y en la producción de proteínas recombinantes, estos promotores presentan grandes ventajas al ser inducidos y reprimidos por azúcares que favorecen los del sistema.

A su vez existen otro tipo de promotor que es inducido bajo condiciones microaeróbicas y reprimido por condiciones aeróbicas, nos referimos al *Pnar* de *Escherichia coli* que desde el punto de vista industrial puede ser usado de una manera eficiente para la producción de proteínas de interés en *Agrobacterium* y *Pseudomonas*.

El principal reto para producir proteínas en *Bacillus subtilis* es la elección de un sistema de expresión adecuado, para ello se evaluó el *PtetA* y *PtetR* en esta bacteria resultando que estos promotores eran funcionales, siendo inducidos por anhidrotetraciclina.

CONCLUSIONES

Nuestro trabajo recopiló algunos de los promotores inducibles en bacterias, al igual que aquellas moléculas con las que son regulados, recalcando su gran importancia cuando se requiere una expresión génica temporal y regulada. Estos datos recopilados serán de ayuda para el investigador a la hora de expresar genes en bacterias bajo el control de un promotor inducible. Sin embargo futuros trabajos son necesarios para caracterizar promotores de este tipo en especies poco estudiadas.

Tabla 1. Principales promotores inducibles utilizados en bacterias

	Especie	Gen a regular	Inductor	Represor	Referencia
Pssb	<i>Deinococcus radiodurans</i>	<i>ssb</i>	Radiación gamma (Bajos niveles)	Radiación gamma (Elevados niveles)	Misra <i>et al.</i> , 2014.
PmalE1 y Pgit1	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	<i>cgR_2367 (malE1)</i> y <i>cgR_2459 (GIT1)</i>	Maltosa Gluconato	Glucosa, fructosa y sacarosa	Okibe <i>et al.</i> , 2010.
PxyIA PlacA	Bacillus megaterium Lactobacillus plantarum	<i>XylIA</i> <i>lacA</i>	Xilosa Lactose	Glucosa Galactosa/Glucosa	Heiss <i>et al.</i> , 2016.
Pnar	Agrobacterium Pseudomonas	<i>nar</i>	Condiciones microaeróbicas	Condiciones aeróbicas	Lee <i>et al.</i> , 2003.
PtetA y PtetR	Bacillus subtilis	<i>tetA</i> y <i>tetR</i>	Anhidrotetraciclina		Heravi <i>et al.</i> , 2015.

BIBLIOGRAFÍA

1. De Guglielmo, Z.C., & Fernández, R.D., (2016). Principales promotores utilizados en la transformación genética de plantas. *Revista colombiana de biotecnología*. 18 (2): 119-128.
2. Gatz, C., & Lenk, L., (1998). Promoters that response to chemical inducers. *Trends Plant Sci.* 3 (1): 352-358.
3. Heiss, S., Hörmann, A., Tauer, C., Sonnleitner, M., Egger, E., Grabherr, R., Heini, S., (2016). Evaluation of novel inducible promoter/ repressor systems for recombinant protein expression in *Lactobacillus plantarum*. *Microbial cell factories*.
4. Heravi, K.M., Watzlawick, H., Altenbuchner, J., (2015). Development of an anhydrotetracycline-inducible expression system for expression of a neopullulanase in *B. subtilis*. *Plasmid*. 82: 35-42.
5. Lee, K.H., Cho, M.H., Chung, T., Chang, H.N., Lim, S.H., Lee, J., (2003). Characterization of an oxygen-dependent inducible promoter, the *Escherichia coli nar* promoter, in gram-negative host strains. *Biotechnol Bioeng.* 82 (3): 271-277.
6. Misra, C.S., Mukhopadhyaya, R., Kumar, S.A., (2014). Harnessing a radiation inducible promoter of *Deinococcus radiodurans* for enhanced precipitation of uranium. *Journal of Biotechnology*. 189: 89-93.
7. Okibe, N., Suzuki, N., Inui, M., Yukawa, H., (2010). Isolation, evaluation and use of two strong, carbon source-inducible promoters from *Corynebacterium glutamicum*. *Letters in applied microbiology*. 50: 173-180.
8. Potenza, C., Aleman, L., & Sengupta-Gopalan, C., (2004). Targeting transgene expression in research, agricultural and environmental applications: promoters used in plant transformation. *In Vitro Cell Dev Biol.* 40 (1): 1–22.
9. Rodríguez, C., (2004). Promoter used to regulate gene expression. Disponible en: www.cambia.org/daisy/promoters/768.html.

REMOCIÓN DE COLORANTES TEXTILES EN AGUA MEDIANTE COLUMNAS EMPACADAS CON ADSORBENTES HÍBRIDOS

Araceli Jacobo Azuara, Jessica Morales Aguilar, Rebeca Jazmín Pérez Rodríguez

Universidad de Guanajuato

RESUMEN

Los colorantes son compuestos químicos complejos y pocos biodegradables, lo que ocasiona una fuerte contaminación de efluentes acuosos. La adsorción es uno de los procesos más eficaces de tratamiento de aguas residuales, es un proceso económico, ya que es fácil de implementar y altamente eficiente para reducir contaminantes peligrosos orgánicos/inorgánicos. El objetivo general de este proyecto es determinar la máxima capacidad de adsorción de materiales híbridos utilizados en un adsorbedor de lote para remover compuestos orgánicos tóxicos provenientes de la industria textil. Los hidróxidos doble laminares (HDL) fueron utilizados en este estudio para examinar la adsorción que tiene hacia los colorantes azul de metileno (AM) y naranja de metilo (NM). Se sintetizaron dos tipos de HDL los cuales contenían diferentes aniones. El mayor porcentaje de remoción de AM sin función de pH fue a una temperatura de 25°C con el HDL-Si mientras que para el NM fue con HDL-CO₃ a 25°C siendo 96.43% y 81.76% respectivamente. Para el caso donde hubo control de pH, se concluyó que el AM obtuvo un mayor porcentaje de remoción sobre el material HDL-Si con un 89.33% a pH 9 ya que el material a ese pH se encuentra cargado negativamente y puede adsorber moléculas catiónicas, por el contrario el NM obtuvo una mayor porcentaje de remoción con un 71.16% a pH 4 ya que el material se encuentra cargado positivamente y puede adsorber moléculas aniónicas como el NM.

INTRODUCCIÓN

Los colorantes son compuestos químicos que básicamente se puede conectar así mismos a las superficies para impartir color. La mayoría de los colorantes son moléculas orgánicas complejas y se requieren que sean resistentes a muchas cosas tales como a la acción de los detergentes. Los colorantes sintéticos son ampliamente utilizados en muchos campos de la tecnología avanzada, por ejemplo, en diversos tipos de industria textil, papel, curtido de pieles, procesamiento de alimentos, plásticos, cosméticos, la industria de fabricación de goma. Sus descargas a los océanos y mantos acuíferos poseen una fuente importante de contaminación debido a su naturaleza recalcitrante, este dará el color indeseable a la masa de agua que reducirá la penetración de la luz solar, resistencia fotoquímica y ataques biológicos para la vida acuática. Hasta la fecha, más de 100,000 colorantes comerciales se conocen con una producción anual de más de 7×10^5 toneladas/año. El consumo total de colorante en la industria textil en todo el mundo es más de 10,000 toneladas/año. Varios métodos, tales como la adsorción, la coagulación, oxidación avanzada y la separación por membranas se utilizan en la eliminación de colorantes de las aguas residuales. La adsorción es uno de los procesos más eficaces de tratamiento de aguas residuales que industrias emplean para reducir contaminantes peligrosos orgánicos/inorgánicos que se encuentran en los efluentes, se considera un proceso económico, ya que es fácil de implementar y altamente eficiente en la eliminación de compuestos tóxicos a partir de soluciones acuosas, especialmente en relativamente bajas concentraciones. [1]

La adsorción es un proceso fisicoquímico que tiene aplicación para la remoción de microcontaminantes orgánicos e inorgánicos disueltos en aguas residuales. El adsorbente es el material donde se depositará el adsorbato atraído por distintas fuerzas químicas o físicas [2]. En la actualidad se ha investigado el uso de diversos materiales adsorbentes como la alúmina, el carbón activado y las arcillas para la remoción de compuestos orgánicos e inorgánicos residuales.

TEORÍA

Características y toxicidad.

Naranja de Metilo.

Los colorantes son una gran familia de compuestos orgánicos en su mayoría utilizados en la industria para teñir textiles, en la medicina para tratar enfermedades y como indicador de pH.

El naranja de metilo es un derivado de la anilina también conocido sal de sodio; siendo su estructura la siguiente:

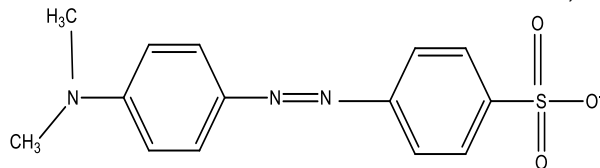


IMAGEN 1: Estructura del naranja de metilo.

Su apariencia física es sólida, ya sea que puede encontrarse en polvo o cristales de color amarillo a naranja, no presenta olor.

El naranja de metilo proviene de las aminas aromáticas como la anilina. La anilina es el producto de partida para la síntesis del naranja de metilo y otros colorantes aromáticos.

En base a las propiedades fisico-químicas las características peligrosas probables son:

- Contacto ocular: irritaciones, riesgo de ceguera (lesión irreversible del nervio óptico)
- Los colorantes azoicos con una componente arilaminica se clasifican como cancerígenos.
- Al ser un compuesto altamente utilizado en la industria de los textiles está presente en las aguas residuales y su remoción es complicada ya que no es un compuesto biodegradable.

Azul de metileno

El azul de metileno es un compuesto heterocíclico de la familia de las fenotiazinas, siendo su estructura la siguiente:

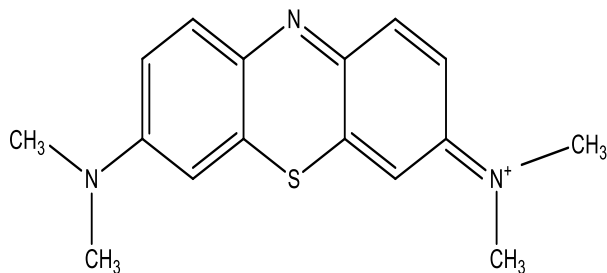


IMAGEN 2: Estructura del Azul de Metileno.

Su nombre químico del azul de metileno es 3-amino-7-dimetilamino-2-metilfenazationa, su aspecto físico es sólido el cual puede encontrarse en forma de polvo o de cristales de color verde oscuro. El azul de metileno es ampliamente utilizado en la industria textil, principalmente para la coloración de algodón, lana y seda, en biología es ampliamente utilizado para realizar tinciones microbiológicas. En el campo de la medicina se ha usado como analgésico, en tratamientos contra la malaria. Se sabe que los colorantes catiónicos como el azul de metileno tienen características carcinogénicas, mutagénicas y altos efectos de coloración en todo el ecosistema al ser descargado en las aguas residuales.

Hidróxido Doble Laminar

Entre el grupo de minerales que se refiere como óxidos e hidróxidos "No-silicatos", los hidróxidos de doble capa (HDL) (imagen 3) también conocidos como materiales tipo hidrotalcitas o arcillas aniónicas, tienen muchas propiedades físicas y químicas que son sorprendentemente similares a las de los minerales de arcilla. Su estructura laminar, amplia composición química (debido a varias sustituciones isomorfas de cationes metálicos), densidad de carga laminar variable, propiedades de intercambio de iones, espacio interlaminar reactivo, crecimiento en agua y propiedades reológicas y coloidales que hacen el HDL similar a la arcilla. Pero debido a sus propiedades de intercambio de anión, HDL es referido como arcillas aniónicas. [3]

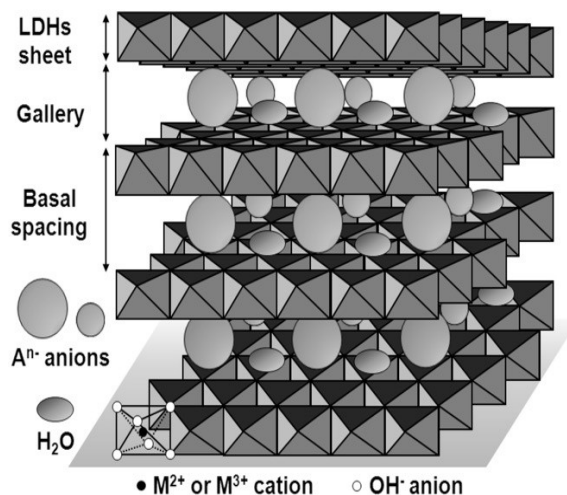


IMAGEN 3: Estructura de hidróxido doble laminar.

El objetivo general de este proyecto es determinar la máxima capacidad de adsorción de materiales híbridos utilizados en adsorbedor en lotes para remover compuestos orgánicos tóxicos provenientes de la industria textil.

PARTE EXPERIMENTAL

Síntesis de Hidróxido Doble Laminar.

El HDL utilizado en este trabajo se obtuvo utilizando una metodología de coprecipitación similar a la reportada por [3]. Ver imagen 4.

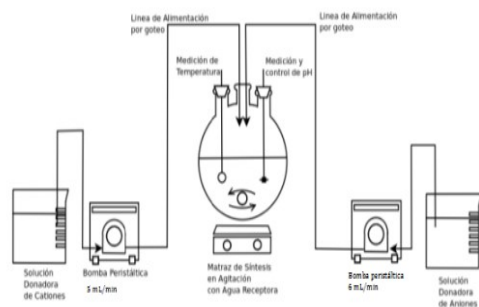


IMAGEN 4: Diagrama de procedimiento de síntesis de HDL.

Método para la determinación de las isotermas de adsorción.

Los datos de equilibrio de adsorción de cada uno de los compuestos empleados se obtuvieron al poner en contacto una concentración del material conocida 0.5 g de HDL en forma de adsorbedor en lote, como lo muestra la imagen 5. El adsorbedor en lote fue un tubo de centrifuga de 50 ml, al cual se le agregaron 0.5 g de HDL (adsorbato) y 40 ml de adsorbente (10, 20, 50, 100, 150, 200 y 300 ppm) las concentraciones utilizadas de ambos colorante. El tiempo de equilibrio fue de cinco días donde el adsorbedor se sumergió a un baño de temperatura constante 25°C y monitoreando el pH.

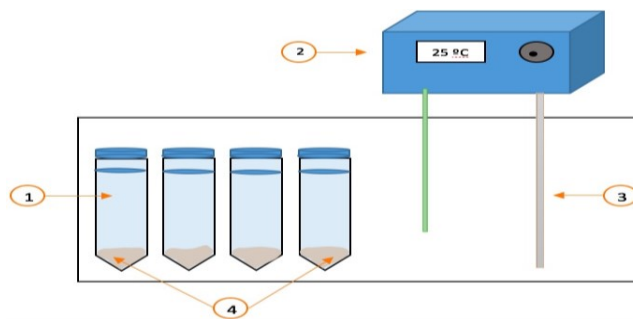


IMAGEN 5: Adsorbedor en lote.

Método para la determinación la concentración de compuestos orgánicos por UV-VIS.

La determinación de la concentración de los compuestos orgánicos por el método UV-VIS se realizó con el equipo marca SHIMADZU y modelo UV-2410PC, en una celda de 10 mm y con un software UV-Probe 2.1.

Nombre	Longitud de onda λ (nm)
1. Naranja de Metilo	463
2. Azul de Metileno	663

Tabla 1: Longitud de onda máxima de los compuestos.

Caracterización.

Composición química.

La composición química de los HDL se determinó por medio de adsorción atómica. El equipo utilizado fue un espectrofotómetro de adsorción atómica marca Perkin Elmer y modelo Analyst 200. El porcentaje de óxido de aluminio se cuantificó por medio de una lámpara de cátodo hueco y utilizando el método de adición estándar. Los HDL recibieron un tratamiento previo, el cual consistió en molienda del material en mortero de ágata hasta una malla aproximada de 200 (0.074 mm), posteriormente se secó a una temperatura de 110°C durante 16 h.

- *Punto de carga cero y distribución de carga superficial.*

El punto de carga cero y la distribución de carga superficial se calcularon por medio de un método ácido-base [4]. La técnica consistió en mantener en contacto 0.5 g del material sintetizado con 25 ml de solución neutralizante durante un tiempo de 24 h, se midió el pH final de la solución neutralizante y también se comparó con el pH de las soluciones neutralizantes se prepararon en un vaso de 50 ml agregando 0.1 ml, 0.5 ml, 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml y 5 ml de soluciones valoradas de HCl 0.1 N o NaOH 0.1 N según el caso. Estos volúmenes se aforaron hasta 25 ml con una solución de NaCl 0.1 N.

Se realizó una gráfica de volumen agregado de solución de HCl y NaOH contra el pH final de la solución con la muestra sintetizada y otra contra el volumen agregado de NaOH y HCl contra el pH final de la solución neutralizante sin material sintetizado, la intersección entre estas dos curvas correspondió al punto de carga cero (PCC) del material sintetizado.

RESULTADOS

Los resultados del análisis de composición química que se realizaron a los materiales HDL, se muestran en la tabla 2, expresándose en forma de óxido, la composición del HDL se observa la presencia de los grupos que lo conforman.

Componente	HDL-Silicato %	HDL-Carbonatos %
1. SiO ₂	38.93	0.00
2. Al ₂ O ₃	18.96	24.54
3. MgO	10.40	17.94

Tabla 2: Composición química de los materiales sintetizados.

El PCC encontrado en el HDL-CO₃ es de 7.0 lo que indica que la superficie del HDL está cargado positivamente cuando el pH < PCC y negativamente cuando pH > PCC. La carga superficial disminuyó considerablemente al aumentar el pH de 7 a 11. El PCC para el HDL-Si fue de 8.3 lo que indica que la superficie del material está cargado positivamente cuando pH < PCC y negativamente cuando pH > PCC. Ver imagen 6 (grafico naranja HDL's silicato, grafico azul HDL's carbonatos).

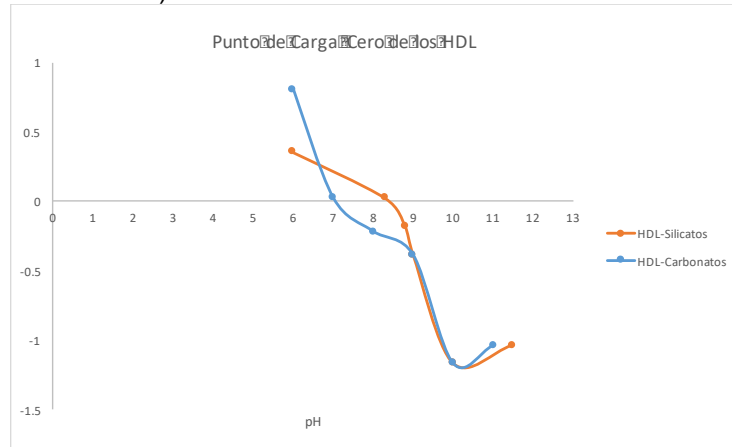


IMAGEN 6: Punto de carga cero de los HDL's.

La imagen 7 y 8 muestra el porcentaje promedio de remoción de cada colorante de acuerdo al material utilizado en el adsorbedor en lote sin control de pH a las temperaturas de 25 y 35°C.

Como se puede observar el azul de metileno tuvo un mayor porcentaje promedio de remoción a la temperatura de 25°C y con el material HDL-Si con un 96.43%, mientras que el naranja de metilo obtuvo su mayor promedio de remoción igual a la temperatura de 25°C con el material HDL-CO₃ con un 81.76%.

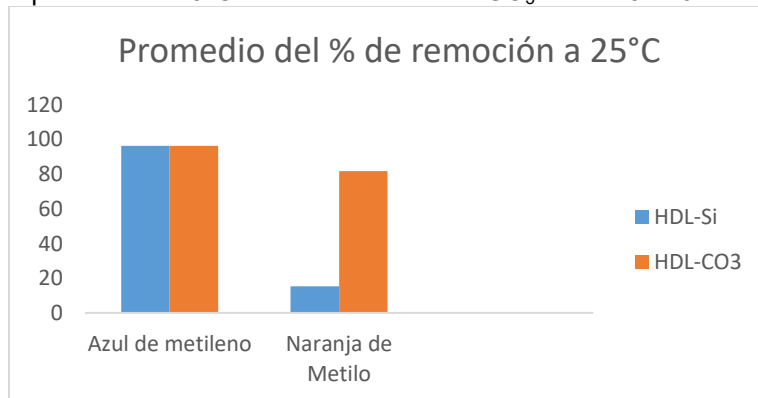


IMAGEN 7: Promedio del porcentaje de remoción de colorantes azul de metileno y naranja de metilo sobre los materiales HDL-Carbonato y HDL-Silicato, sin control de pH a 25°C.

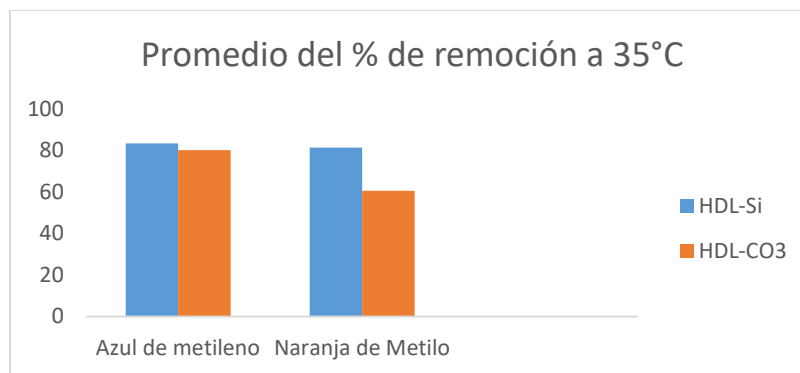


IMAGEN 8: Promedio del porcentaje de remoción de colorantes azul de metileno y naranja de metilo sobre los materiales HDL-Carbonato y HDL-Silicato, sin control de pH a 35°C.

Los resultados obtenidos del equilibrio de adsorción de ambos colorantes a diferentes pH sobre el material HDL-Si se observa en la imagen 9, lo importante de este grafico es que sabemos que el azul de metileno obtiene su mayor porcentaje de remoción sobre dicho material y el mejor valor de pH al que es removido es de 9 con un 89.33% esto era de esperarse debido a que es un colorante azoico catiónico y la superficie del material a eso pH está cargada negativamente.

Por otro lado los resultados obtenidos del equilibrio de adsorción de ambos colorantes a diferentes pH sobre el material HDL-CO₃ se observa en la imagen 10, cabe resaltar que el naranja de metilo previamente vimos que su remoción se ve favorecida sobre este material, por lo tanto, de acuerdo a este grafico el mejor valor de pH en el cual es removido es de un valor de 4 con 71.16%, y va disminuyendo conforme el pH va aumentando, esto se debe a que la carga positiva del material se reduce conforme aumenta el pH y la fuerza de repulsión entre el adsorbato y adsorbente aumenta.

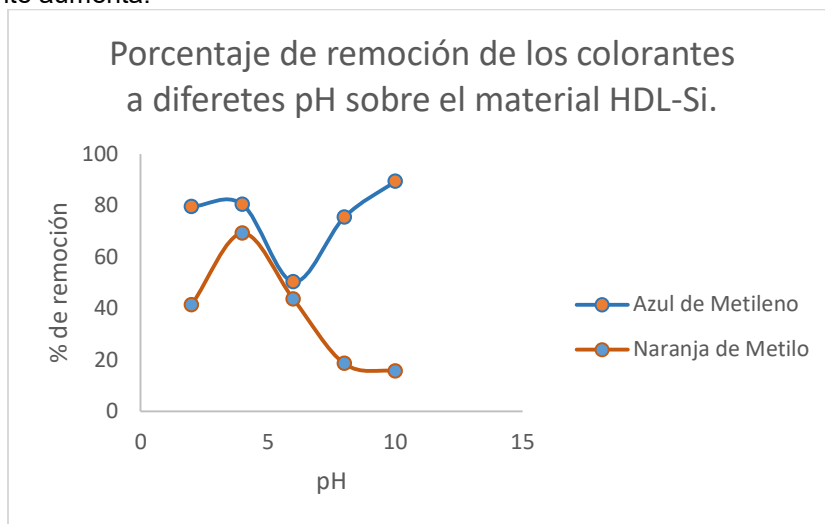


IMAGEN 9: Porcentaje de remoción de colorantes azul de metileno y naranja de metilo sobre HDL-Si en función de pH, a 25°C.

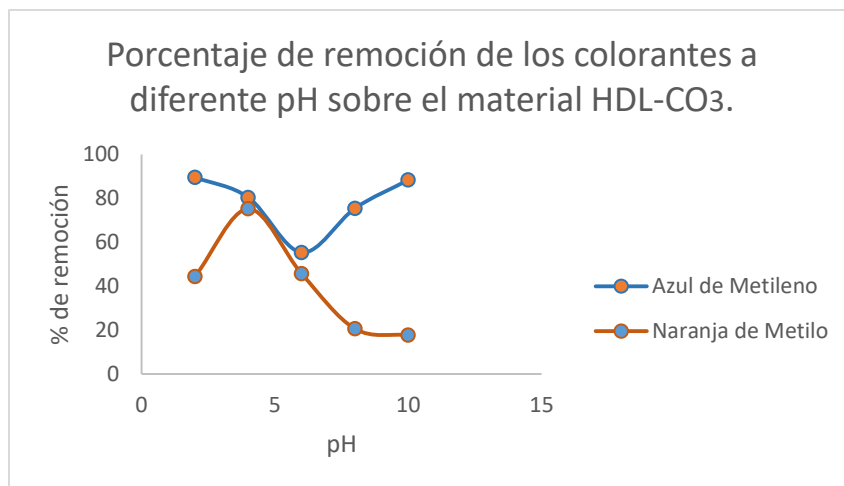


IMAGEN 10: Porcentaje de remoción de colorantes azul de metileno y naranja de metilo sobre HDL-CO₃ en función de pH, a 25°C.

CONCLUSIONES

En el trabajo realizado se observó que los HDL sintetizados presentaron una buena capacidad para remover compuestos orgánicos como los colorantes.

Presentaron altos porcentajes de remoción ambos colorantes bajo las condiciones de temperatura de 25°C sin control de pH, el azul de metileno obteniendo su mayor porcentaje de remoción sobre el HDL-Silicato con un 96.43% y el naranja de metilo sobre el HDL-Carbonato con un 81.76%.

Para el caso de los datos de equilibrio de adsorción donde hubo control de pH utilizando como adsorbente el ambos tipos de HDL's, se concluyó que el azul de metileno obtuvo un mayor porcentaje de remoción sobre el material HDL-si con un 89.33% a pH 9 ya que el $\text{pH} > \text{PCC}$ puede adsorber moléculas catiónicas, por el contrario el naranja de metilo obtuvo una mayor porcentaje de remoción sobre el HDL- CO_3 con un 71.16% a pH 4 ya que el $\text{pH} < \text{PCC}$ dicho material puede adsorber moléculas aniónicas como el naranja de metilo a ese valor de pH.

BIBLIOGRAFÍA

1. Mustafa Y. Yagub, Tushar Kanti Sen, Sharmeen Afroze, H.M. Ang. (2014). Dye and its removal from aqueous solution by adsorption: A review. Elsevier, 209, pp. 172-184.
2. Mariangela Grassi, Gul Kaykioglu, Vincenzo Belgiorno, Giusy Lofrano. (2012). Removal of Emerging Contaminants from Water and Wastewater by Adsorption Process. Emerging Compounds Removal from Wastewater, pp. 15-37. Springer.
3. Gerhard Lagaly, Faiza Bergaya. (2006) Layered Double Hydroxides. Handbook of clay science pp.1021-1023. Elsevier Ltd Editorial.
4. Leyva Ramos, R.; Rangel Méndez, J. R.; Mendoza Barrón, J.; Fuentes Rubio, L.; Guerrero Coronado, R. M. Water Sci. Technol. (1997), pp. 35, 205-211.

DETERMINACIÓN DE CONTROLES DE DIFERENCIACIÓN OSTEABLÁSTICA Y EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE ANDAMIOS TRIDIMENSIONALES A BASE DE POLIURETANO E HIDROXIAPATITA

Jéssica Aneth Vergara Hernández, Ana Edith Higareda Mendoza, Marco Aurelio Pardo Galván

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

RESUMEN

La osteoporosis es un problema de salud pública muy frecuente en México y su principal consecuencia son las fracturas que se producen en situaciones que normalmente no dañarían al paciente, como una caída leve o un pequeño golpe. Estas fracturas suelen ser peligrosas y es por ello que se buscan alternativas proponiéndose el uso de biomateriales capaces de regenerar el tejido dañado a medida que se degradan en el cuerpo humano, sin causar daños ni modificaciones al entorno en el que ha sido implantado y, a su vez, debe ser absorbido y desechado por el organismo. Los biomateriales son clasificados como polímeros, cerámicos y metálicos; la combinación entre estos materiales es llamada biocomposito. La mezcla de un polímero con un cerámico da como resultado un biocomposito moldeable, biodegradable y resistente; es bajo esta premisa que se propone el uso de poliuretano (polímero) con hidroxiapatita (cerámico) esperando ver resultados favorables para su futuro uso en las ciencias médicas como alternativa a implante en casos de osteoporosis. Para la evaluación de estos biocompositos es necesario tener un valor de referencia para concluir si este es o no eficiente, para ello se establecieron los controles de la línea celular MC3T3-E1 mediante la determinación de colágeno, actividad de fosfatasa alcalina y la deposición de nódulos de calcio en dos grupos: uno inducido a la diferenciación por la adición de ácido ascórbico al medio y un grupo control, observándose una diferencia significativa entre estos grupos. Los biocompositos fueron fabricados con diferentes concentraciones de hidroxiapatita para determinar la concentración óptima que permita la diferenciación ósea en medio de cultivo sin ácido ascórbico, estas concentraciones fueron de 0%, 5%, 10% y 20%; cada lote fue evaluado con las pruebas establecidas en los controles.

INTRODUCCIÓN

El hueso es el único tejido capaz de regenerarse por completo tras sufrir un daño teniendo un tejido idéntico al preexistente. Debido a una mayor tasa de resorción a partir de la tercera década de vida, esta propiedad se ve afectada ya que la formación de hueso no es la suficiente para compensar la pérdida de masa ósea y como consecuencia se ve afectada la densidad y estructura del hueso dando un suelo fértil a la osteoporosis.¹

Para tratar las fracturas provocadas por la osteoporosis se han desarrollado diferentes estrategias dependiendo de la fractura, siendo una práctica común el uso de piezas metálicas para unir los huesos fracturados, lo cual provoca inflamación y dolor crónico. También se utilizan injertos para algunas fracturas y se clasifican como autoinjertos, aloinjertos y xenoinjertos. Los autoinjertos son considerados el estándar de oro en cuanto a implantes y regeneración ósea debido a que prácticamente no desencadenan una respuesta inmune y se adaptan perfectamente al usuario, pero tienen la gran desventaja de la disponibilidad de material para injertar (el cual suele ser tomado de la cadera) y el hecho de que son necesarias dos intervenciones quirúrgicas: una para obtener el injerto y otra más para implantarlo. De los aloinjertos y xenoinjertos se tiene la desventaja de la respuesta inmune, la cuál puede ser exacerbada.

El enfoque de los investigadores ha ido entonces a la búsqueda de un material que sea capaz de regenerar el tejido preexistente.

El objetivo del presente trabajo fue el establecer los controles de los marcadores de diferenciación para la línea celular MC3T3-E1, para su posterior comparación con los andamios sintetizados a base de poliuretano con diferentes concentraciones de hidroxiapatita, lo cual permitirá determinar qué concentración de hidroxiapatita es más adecuada para promover la diferenciación celular y formar tejido *de novo*.

TEORÍA

El hueso es un tejido dinámico en constante formación y reabsorción, un ciclo controlado llamado remodelado que permite una renovación del 10- 15% del hueso total al año en condiciones normales.¹

El recambio óseo es importante debido a que permite el mantenimiento de la masa ósea, la reparación del tejido tisular y la homeostasis en la concentración de calcio y fósforo.

El proceso de remodelamiento es coordinado por dos tipos celulares: los osteoclastos que se encargan de la resorción y los osteoblastos que se encargan de la formación, constando de 5 fases. Estas fases son:

- 1.- Fase quiescente: fase en la cual el hueso está en estado de reposo, sin cambios.
- 2.- Fase de activación: fase en la cual la superficie a reabsorberse se activa mediante la retracción de las células limitantes iniciando la digestión por las colagenasas.
- 3.- Fase de reabsorción: una vez atraídos los osteoclastos hacia la matriz osteoide, éstos inician la degradación liberando factores de crecimiento de la matriz, los cuáles son quimiotrayentes para los preosteoblastos.
- 4.- Fase de formación: una vez liberados los factores quimiotácticos de la matriz, éstos atraen e inducen a la proliferación a los preosteoblastos, los cuales forman agrupamientos y liberan una sustancia cementante; los osteoblastos diferenciados y comunicados segregarán la sustancia osteoide que rellenará los espacios aún vacíos.
- 5.- Fase de mineralización: esta fase inicia transcurridos 30 días después del depósito osteoide y finaliza a los 130 días en hueso cortical y a los 90 en el trabecular, entrando en fase de quiescencia y concluyendo así el ciclo.¹

Los mecanismos de diseño y rediseño óseo involucran 3 procesos diferentes: crecimiento, modelado y remodelado. Durante el crecimiento, los osteoblastos y osteoclastos trabajan a un ritmo mayor de manera independiente y en zonas diferentes regularmente extensas; como resultado el balance neto de la masa ósea es positivo y los huesos adquieren sus características finales (longitud, densidad, forma externa) teniendo la mayor cantidad de masa ósea.

A partir de la tercera década de vida se observa una pérdida de masa ósea (balance negativo), ésta pérdida es inevitable y está relacionado con el remodelado, en el cual los osteoblastos y los osteoclastos están activos, muy cerca unos de otros provocando una mayor resorción de materia ósea; la pérdida gradual de la densidad ósea debido a una gran actividad osteoclástica conduce a la osteoporosis.

El principal problema de la osteoporosis son las fracturas, las cuales son tratadas desde el punto de vista mecánico buscado proporcionarle al hueso la resistencia necesaria para soportar la carga a la que es sometido cotidianamente; sin embargo, esto no es suficiente debido a que la resorción no se detiene y las piezas metálicas no favorecen la formación.

Con el nacimiento de la ingeniería de tejidos nace el concepto de los biomateriales y la regeneración ósea guiada. Los biomateriales son definidos como un material ideado para interactuar con los sistemas biológicos para evaluar, tratar, aumentar o sustituir cualquier tejido, órgano o función del cuerpo según la "Second Consensus Conference on definitions in Biomaterials" (Segunda Conferencia para el Consenso de definiciones en Biomateriales), que tuvo lugar en el Reino Unido en 1992.

Con el avance de las investigaciones se determinaron las características ideales con las que deben contar los biomateriales: biodegradabilidad, resistencia y compatibilidad mecánica, osteoinductividad, osteoconductividad, porosidad.² (Velasco Peña, M. A., & Garzón Alvarado, D. A., 2010)

Los materiales se clasifican según de lo que están compuestos en: cerámicos, metálicos, poliméricos u orgánicos (como los injertos) y pueden hacerse combinaciones entre éstos para balancear las deficiencias que presentan.

Existe una predilección a los compuestos de polímeros con cerámicas, debido a las propiedades de las cerámicas como la osteoconducción y a la versatilidad de los polímeros para ser moldeados.

Para la demostración de la efectividad de estas propiedades es necesario establecer sistemas de cultivo *in vitro* que reflejen las diferentes etapas de maduración durante la osteogénesis y que sean comparables con los efectos que produce el biocomposito en las células; ésto es posible gracias a que las etapas de diferenciación pueden ser identificadas por medio de los marcadores que se expresan en cada una de ellas.³

La matriz extracelular juega un rol importante en la diferenciación celular, ya que, al quedar los osteoblastos incrustados en ella y en perfecta comunicación unos con otros se logra un ambiente propicio que dará la señalización de diferenciación hacia los osteocitos, finalizando así la etapa de maduración. Es justamente sobre la matriz extracelular en donde se lleva a cabo la mineralización, confiriéndole al tejido propiedades de elasticidad, rigidez y resistencia mecánica. La matriz se encuentra formada por proteínas colágenas (colágeno tipo I, tipo III, V y VII) y proteínas no colágenas, entre otros componentes orgánicos e inorgánicos. El colágeno es segregado por los osteoblastos y las fibras son estabilizadas por puentes de hidrógeno entre aminoácidos y a través de puentes de piridinolina, entre las hidroxilisinas y lisinas; sin embargo, no es suficiente para proveer al tejido de las propiedades necesarias debido a que el colágeno no tiene gran afinidad por el calcio, para ello la fosfatasa alcalina es requerida debido a que es una enzima que libera el fosfato inorgánico a partir de ésteres fosfóricos, necesarios para la mineralización de la matriz.

La deposición de los cristales de hidroxiapatita (un fosfato de calcio de calcio) se da sobre las fibras colágenas; la mineralización es el último paso de la diferenciación.¹

PARTE EXPERIMENTAL

Material a evaluar

Se crearon lotes de andamios a base de poliuretano con 20%, 10%, 5% y 0% de nano-hidroxiapatita por medio del método de cernida y colada, los cuáles fueron esterilizados con etanol al 70% y con exposición a luz ultravioleta por más de ocho horas.

Determinación de los niveles de expresión de los marcadores en el cultivo celular

Como modelo se utilizó la línea celular MC3T3-E1 subclona 4 bajo condiciones de proliferación y diferenciación. Para establecer los controles se cultivó la línea celular MC3T3-E1 en cajas Petri para cultivo celular de 35mm x 10mm con una densidad de 500,000 células por caja, asegurando la confluencia. Se tomaron muestras durante 21 días y se determinó la cantidad de producción de colágeno, fosfatasa alcalina y la deposición de nódulos de calcio a través de este tiempo.

En el caso de los andamios, se les adicionaron 500,000 células a cada uno con medio no osteoinductivo (sin ácido ascórbico) durante 21 días tomando muestra durante este periodo.

Se realizaron cambios de medio cada tercer día en ambos casos, para reposición de nutrientes, y se incubaron a 37°C con 6% de CO₂.

Determinación de la actividad de fosfatasa alcalina

Para la determinación de la actividad de fosfatasa alcalina se tomaron muestras correspondientes a los días 1, 5, 7, 10 y 14. Se lisaron las células con Igepal al 2% y se determinó la actividad de fosfatasa alcalina con 4-metilumbeliferona (4-MUP) siguiendo el protocolo para micro ensayos (Promega), en el cuál el 4 MUP actúa como sustrato y se obtiene la lectura del producto enzimático (altamente fluorescente) correspondiente a la actividad de fosfatasa alcalina presente en la muestra.

Se determinó la cantidad de proteína por el método de Bradford (BioRad) siguiendo el protocolo del proveedor y se comparó con los resultados obtenidos de la determinación de fosfatasa alcalina para definir qué cantidad de fosfatasa corresponde a las proteínas totales.

Determinación de la síntesis de colágeno

Se tomaron muestras de los días 3,7 y 14. Las muestras fueron fijadas con solución de Bouins por una hora; posterior a la fijación se le adicionó el reactivo de Picrocirius Red y se incubó una hora. Para eliminar el exceso de colorante, se lavaron las muestras con ácido clorhídrico 0.01N (HCl) hasta que los desechos del lavado fueron transparentes. Posteriormente se les agregó un mililitro de hidróxido de sodio (NaOH) 0.1N y se les dejó en agitación durante media hora en oscuridad, se colectó el producto y se leyó a 550nm en un espectrofotómetro utilizando como blanco la solución de NaOH 0.1N.

Determinación de la deposición de nódulos de calcio

Para la determinación de la deposición de nódulos de calcio se tomaron muestras de los días 7,14 y 21, en cada ocasión las muestras fueron fijadas durante una hora con un mililitro de etanol al 70% a 4°C y lavadas con agua destilada estéril. Posterior a esto, se les adicionó el colorante de Rojo de alizarina (RAS) preparado en etanol (0.2% de RAS y 2% de etanol) dejando en agitación durante 20 minutos; transcurrido este tiempo se realizaron lavados con agua destilada hasta eliminar el exceso de colorante. Se le agregó una solución recién preparada de 0.5 N de HCl con 5% de SDS para extraer el colorante de las muestras y determinar la cantidad de nódulos de calcio presente en cada una de ellas, recuperando el sobrenadante y leyendo a 415 nm; se utilizó como blanco la solución de ácido clorhídrico en SDS.

RESULTADOS

Controles

Durante el desarrollo del experimento fueron observables diferencias notables entre las células inducidas a diferenciación y las células control, tales como la morfología celular. Las células control permanecen con una morfología redondeada y permanecen en confluencia mientras que las células inducidas a diferenciarse adoptan una forma elongada y forman una capa celular (deposición de matriz extracelular) que aumenta de grosor conforme pasan los días (Fig.1).

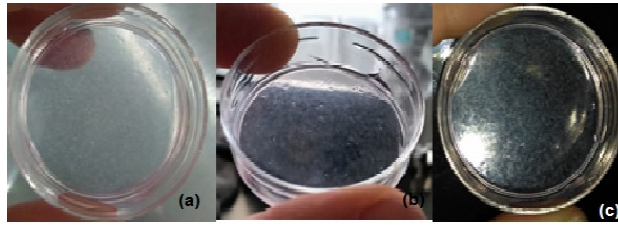


Figura 1. Formación de la matriz extracelular en células inducidas a diferenciación. (a) día 7, (b) día 14, (c) día 21.

Colágeno:

En la determinación de la síntesis de colágeno se vio un aumento en la cantidad de éste conforme avanzó el experimento, tomando en cuenta que se tiene una expresión basal de esta proteína. Se observaron las muestras (control y diferenciadas) en un microscopio invertido y, con la tinción utilizada, es evidente a partir del tercer día la síntesis de colágeno (tiempo en el cuál no son apreciables diferencias morfológicas) (Fig. 2).

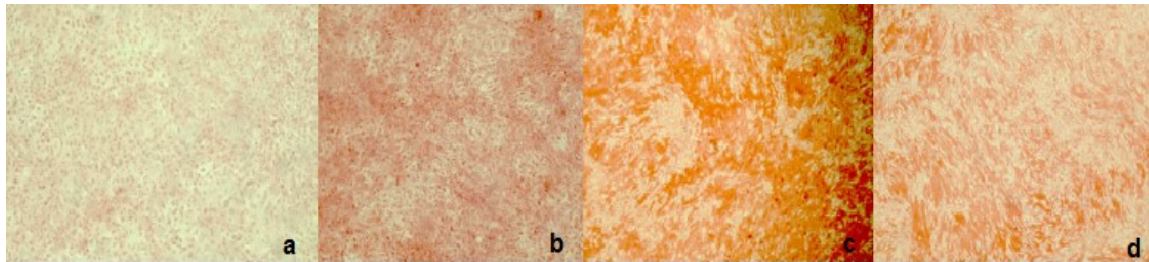


Figura 2. Síntesis de colágeno extracelular. a) Muestra indiferenciada (control) día 14, Muestra diferenciada b) día 3, c) día 7, d) día 14.

Con las mediciones de espectrofotometría se observa un aumento en la cantidad de colágeno, concordando con lo observado en el microscopio (Fig. 3). Asimismo, en los andamios se observa un aumento en la cantidad de colágeno indicando la diferenciación celular de las células MC3T3-E1 (Fig. 4).

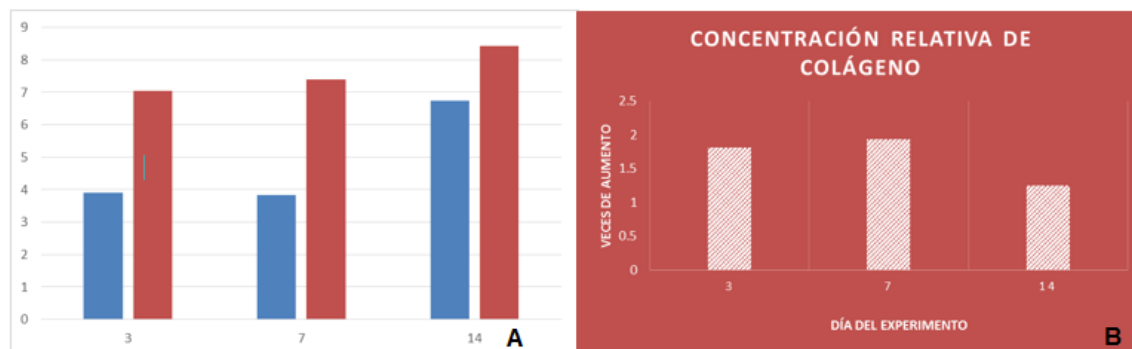


Figura 3. Expresión de colágeno. A) Comparación de la expresión de colágeno de las muestras diferenciadas con la muestra control. B) Veces de aumento de la síntesis de colágeno en comparación al control.

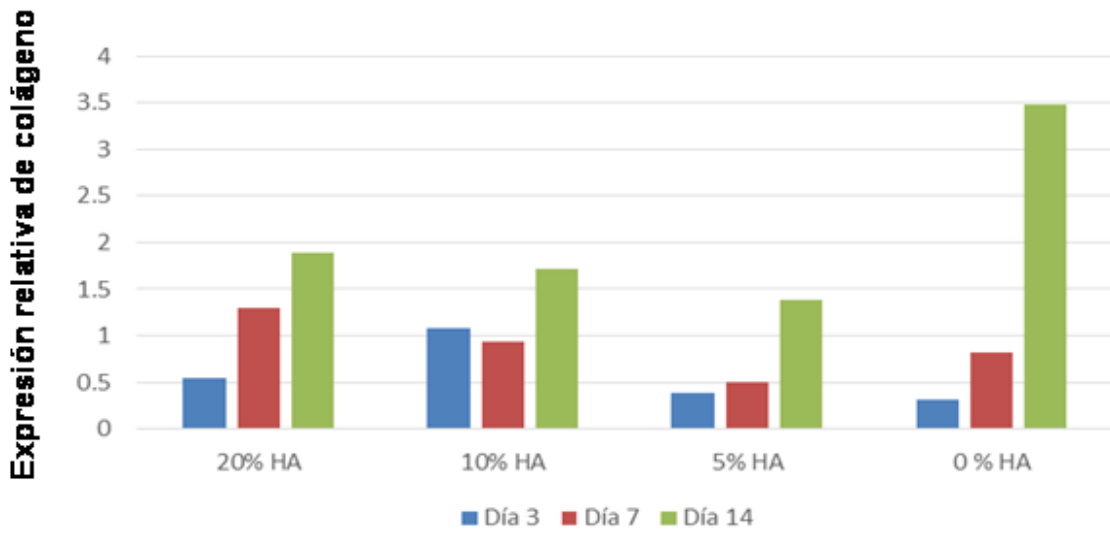


Figura 4. Expresión de colágeno en los lotes de andamios.

Deposición de nódulos de calcio:

Los nódulos de calcio son observados a simple vista como pequeños puntos carmín que se vuelven más abundantes a medida que las células se diferencian.

En el control se observó una clara diferencia macroscópica y microscópica de manera que al pasar los días la muestra presenta más nódulos de calcio (Figs. 5 y 6) y las mediciones de absorbancia aumentan conforme se diferencian las células (Fig. 7).

En los andamios se observa un aumento gradual en la coloración y son observables nódulos de calcio a simple vista en forma de puntos (Fig. 8), aumentando también las lecturas de absorbancia (Fig. 9).

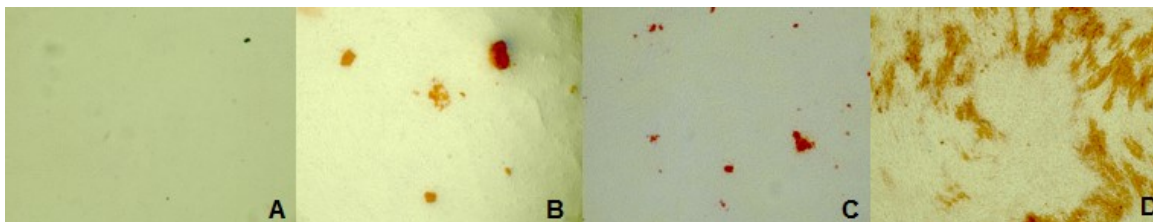


Figura 5. Muestras macroscópicas de la prueba de deposición de nódulos de calcio. A) Muestra control día 21, ausencia de nódulos de calcio; B) Muestra diferenciada día 7, se observan algunos nódulos de calcio en forma de pequeños puntos carmín; C) Muestra diferenciada día 14, se observan varios nódulos de calcio dispersos en la placa; D) Muestra diferenciada día 21, incontables nódulos de calcio.

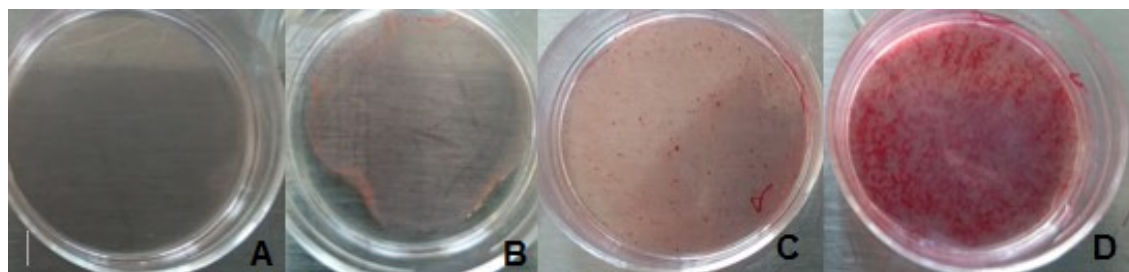


Figura 6. Observación al microscopio (10X) de las muestras tratadas con Rojo de alizarina. A) Control día 21, ausencia de nódulos de calcio; B) Muestra diferenciada día 7, se observan nódulos de calcio de coloración rojiza; C) Muestra diferenciada día 14, se observa un aumento de la cantidad de nódulos por campo; D) Muestra diferenciada día 21, coloración roja intensa, nódulos incontables.

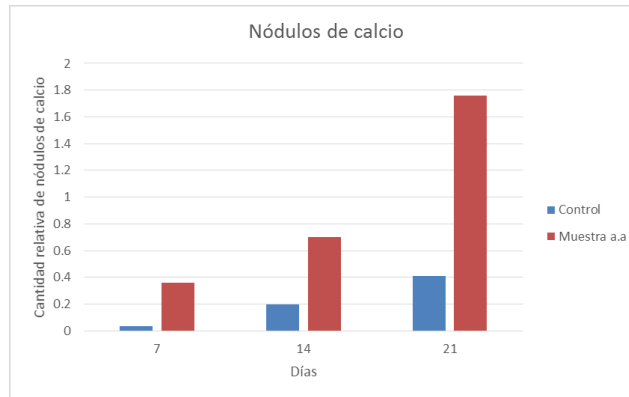


Figura 7. Expresión de nódulos de calcio en el control.

Se observa una gran diferencia del día 7 al día 21.

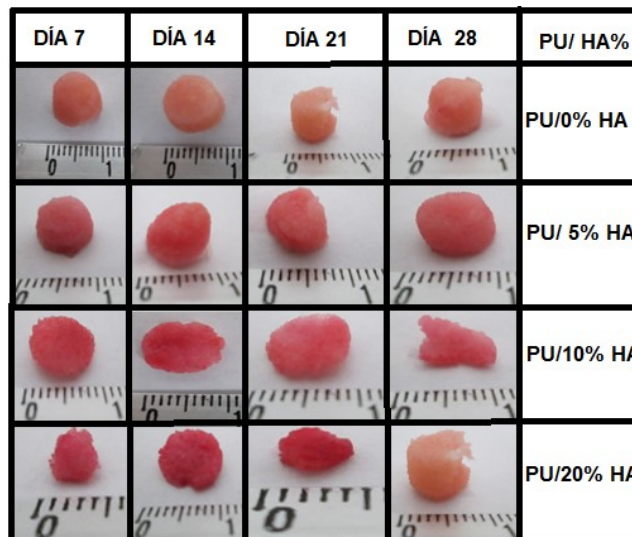


Figura 8. Lotes de andamios con diferentes concentraciones de hidroxiapatita. Se observan nódulos de calcio en forma de pequeños puntos carmín sobre el andamio desde el día 14 y hacia el día 28 se vuelven más evidentes.

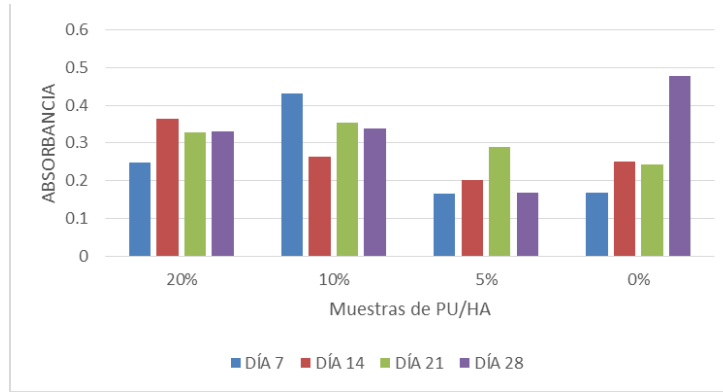


Figura 9. Deposición de nódulos de calcio en los diferentes lotes de andamios.

Actividad de fosfatasa alcalina

Se determinó la cantidad de proteína por medio de una curva de calibración y con estos valores se determinó la actividad de fosfatasa alcalina en cada muestra para establecer los niveles de expresión relativa durante la diferenciación (Fig. 10).

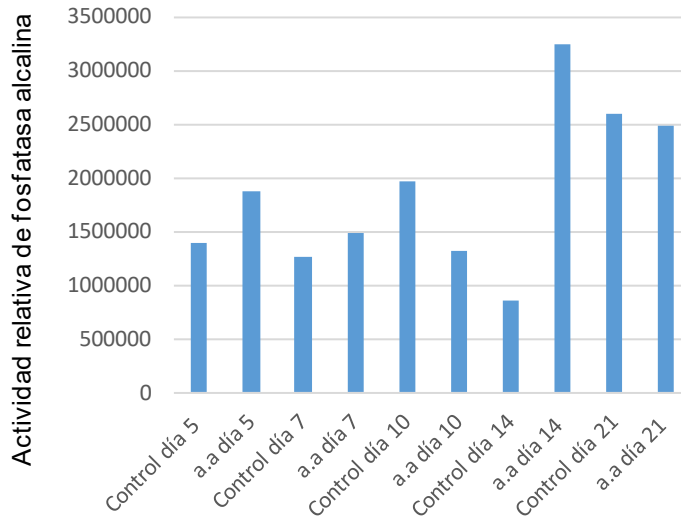


Figura 10. Diferencia de actividad de fosfatasa alcalina durante 21 días en células control y células diferenciadas MC3T3-E1. Hay un aumento notable en la muestra diferenciada del día 14.

CONCLUSIONES

Los niveles de expresión de los marcadores de diferenciación son mesurables, siendo notables los aumentos y variaciones de cada uno de ellos. Estos marcadores servirán como base para determinar la eficiencia de los andamios en el proceso de la regeneración ósea.

BIBLIOGRAFÍA

1. I. Fernández-Tresguerres Hernández-Gil, M. A. Alobera Gracia, M. D. Canto Pingarrón, L. Blanco Jerez, "Bases fisiológicas de la regeneración ósea I: Histología y fisiología del tejido óseo", Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal, Vol. 11, 1,2006, pp. 47-51.

2. M. A. Velasco Peña, D. A. Garzón Alvarado, "Scaffolds implants for the bone regeneration. Materials, techniques and modeling by means of reaction-diffusion systems", *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, Vol. 29, 1, 2010, pp. 140-154.
3. A. Yamaguchi, T. Komori, T. Suda, "Regulation of osteoblast differentiation mediated by bone morphogenetic proteins, hedgehogs, and Cbfa1", *Endocrine reviews*, Vol. 21, 4, 2000, pp. 393-411.

MODULACIÓN DEL EJE NOTCH1/P63 EN LA DIFERENCIACIÓN DE QUERATINOCITOS HUMANOS POR ACTIVACIÓN DEL RECEPTOR DE HIDROCARBUROS DE ARILO (AHR) CON 6-FORMIL INDOLO [3,2-B] CARBAZOL (FICZ)

Claudia I. Almendárez-Reyna e Iván N. Perez-Maldonado

Laboratorio de Toxicología Molecular, Centro de Investigación Aplicada en Ambiente y Salud (CIAAS), Coordinación para la Innovación y Aplicación de la Ciencia y la Tecnología (CIACYT), Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, México.
Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, México.

RESUMEN

El Receptor de Hidrocarburos de Arolo (AhR), es una proteína citoplasmica que se activa frente a varios contaminantes ambientales y activa su metabolismo. AhR se expresa de manera abundante en los queratinocitos de la epidermis, donde también induce la proliferación y diferenciación celular. Estudios indican que AhR participa en la inducción de cáncer en modelos murinos al favorecer un estado pro-proliferativo dentro del tejido. Íntimamente involucrada con AhR, la proteína acuaporina 3 (AQP3) también ha demostrado inducir la aparición de tumores en ratones. Estudios sugieren que AQP3 pudiera promover su efecto pro-cancerígeno, al regular negativamente a la proteína Notch1, la cual, participa en el proceso de maduración celular. De manera interesante, AQP3 es un gen blanco de p63, una proteína citoplasmica antagónica de Notch1. La comunicación entre AhR con AQP3 y de ésta con Notch1 y con p63, facilitaría un estado pro-proliferativo dentro de las células de la piel. FICZ (6-formil indolo [3,2-b] carbazol), un producto de la irradiación con luz UV del triptófano, activa a AhR a bajas concentraciones y promueve la proliferación celular. Se desconoce si los efectos dañinos de la radiación UV en la piel, pudieran estar mediados por estas proteínas en respuesta a FICZ.

INTRODUCCIÓN

La piel es el órgano más grande y pesado en el cuerpo humano y es la primera barrera de defensa frente a insultos físicos químicos y biológicos. Estructuralmente, la piel está conformada por dos capas: la dermis y la epidermis. La epidermis es la capa más superficial y delgada está conformada por diversos tipos celulares, donde los queratinocitos son el tipo celular más abundante. La epidermis, se divide en diferentes estratos que se caracterizan por tener células en división, como el estrato basal; y estratos que se caracterizan por tener células en el proceso de maduración o diferenciación del tejido, como lo son el estrato espinoso, granuloso, lúcido y corneo. En el estrato basal, las células que se encuentran en constante división darán lugar a nuevos queratinocitos que tras diferentes estímulos (tales como factores de crecimiento), empezaran a expresar genes que le encaminen en el proceso de maduración o diferenciación celular (queratinización del tejido), que le dará al órgano sus características geno- y fenotípicas como elasticidad, hidratación e impenetrabilidad (1). Cuando se pierde la homeostasis entre los procesos de división y de diferenciación celular y se favorece solo la división, se da lugar al desarrollo y mantenimiento de enfermedades como el cáncer.

TEORÍA

El receptor de hidrocarburos de arolo (AhR) es una proteína citoplasmica que se expresa en diferentes tejidos como el hepático, el pulmonar y de manera importante, en el sistema tegumentario. Diversos estudios indican que AhR es una proteína que participa en múltiples procesos como la organogénesis y en eventos como la proliferación, la diferenciación y la apoptosis celular (2); sin embargo, la función más conocida de este receptor es su capacidad de activar el metabolismo celular, lo cual favorece la biotransformación de compuestos tóxicos para su posterior eliminación (3). En un inicio, AhR fue conocido por su respuesta a contaminantes ambientales como los hidrocarburos aromáticos policíclicos (4), de entre los cuales destaca el benzo (a) pireno, una molécula ligando de AhR, que a través de este receptor promueve y mantiene el desarrollo de procesos oncogénicos en ratones (5). Linh-Chi y cols en el 2015 demostraron que el benzo (a) pireno (y otros ligandos de AhR), promovía el aumento de la expresión de la acuaporina 3 (AQP3), una proteína canal transportadora de moléculas pequeñas como agua y glicerol y que se encuentra muy presente en los tejidos de alto contenido hídrico, como la piel. En este estudio se demostró que AQP3 contenía dentro de su genoma, una secuencia blanco para AhR (6);

lo cual indica que AQP3 se encuentra cascada de señalización debajo de AhR. Esta interacción resulta interesante debido a que estudios *in-vitro* demuestran que AQP3 participa de forma activa y es prescindible para la inducción de cáncer en modelos murinos (7). Se sugiere que AQP3 pudiera promover la proliferación y por lo tanto el aumento en la división celular de los queratinocitos, al regular de manera negativa a la proteína Notch1, la cual, participa en el proceso de diferenciación celular (8). Notch 1, es la isoforma más prevalente en piel del gen Notch. Al igual que todos los miembros de su familia, Notch1 es una proteína extracelular que es activada por sus ligandos encontrados en células adyacentes; al activarse, promueven la diferenciación celular de los queratinocitos al aumentar la expresión de marcadores de maduración tales como involucrina, queratina 1 y filagrina (9). En caso de que AQP3 apagara la expresión de Notch1, las células no perderían su capacidad proliferativa (una característica importante en cáncer); además, se modificaría la expresión de otras proteínas dependientes de Notch1, como p63. P63 es una proteína citoplasmica que participa en la división celular de los queratinocitos en el estrato basal y está íntimamente relacionada con Notch1 al mantener el equilibrio entre los procesos de proliferación y diferenciación celular (10). Cuando se disminuye de manera exógena la presencia de alguna de estas dos proteínas rompiendo el equilibrio entre estos dos procesos fisiológicos, la proteína no alterada, aumenta su expresión. Este antagonismo ha sido comprobado por diversos estudios (11), y en modelos murinos de cáncer, se ha demostrado que p63 aumenta la proliferación celular y en diversos cánceres de piel, se ha visto que Notch1 disminuye o anula su presencia en el tejido (12). Ello sugiere que la regulación negativa de Notch1 mediada por AQP3 podría favorecer un estado pro-proliferativo, gracias a la participación de p63. De forma adicional, un estudio realizado en el 2013 encontró que en líneas celulares de cáncer escamoso de lengua y laringe, p63 aumentaba la expresión de AQP3 en presencia de cisplatino, un fármaco que produce mutaciones en el DNA. Esta evidencia, probaría que p63, en comunicación con AQP3, podría regular de una forma más directa la expresión de Notch1, apagándola (13).

FICZ (6-formil indolo [3,2-b] carbazol), es una molécula producto de la irradiación con luz UV del triptófano, la cual, es capaz de activar a AhR a bajas concentraciones, (14,15). Estudios han demostrado que FICZ, a través de AhR promueve la proliferación celular al favorecer la internalización del receptor de factor de crecimiento epidermal (16), además de inducir procesos inflamatorios al promover el aumento en la expresión de genes como COX-2 (17). FICZ es el ligando más potente de AhR y debido a los antecedentes mostrados, el presente estudio evaluará si FICZ es capaz de activar la vía AhR> AQP3> Notch1> p63 y de esta manera, evitar la diferenciación celular de los queratinocitos.

PARTE EXPERIMENTAL

Cultivo celular

Se utilizará la línea celular inmortalizada de queratinocitos humanos HaCaT. Las células se mantuvieron con medio basal suplementado con un Kit de crecimiento para queratinocitos (ATCC).

Ensayo de viabilidad con resazurina

La resazurina es un indicador redox permeable a las células que es utilizado como un marcador que monitorea el número de células viables dentro del cultivo. Las células viables con metabolismo activo pueden reducir la resazurina en resorufina, un producto rosa y fluorescente.

Se evaluaron diferentes concentraciones y tiempos de incubación para el 6-formil indolo [3,2-b] carbazol (FICZ) y para benzo (a) pireno (como control positivo) y se probó su toxicidad en presencia de resazurina.

Ensayos de expresión

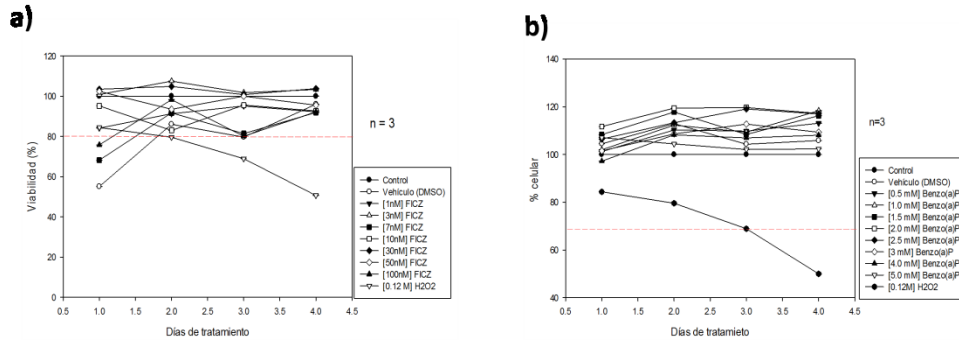
Se evaluó la capacidad de FICZ y benzo (a) pireno para activar a AhR, a través de medir los niveles de expresión de CYP1A1, uno de los genes más representativos de la vía de activación de AhR, por PCR tiempo real. Ello se realizará con las concentraciones establecidas como no-toxicas obtenidas en los ensayos de viabilidad.

Así mismo, se evaluó la expresión de la acuaporina 3 (AQP3), Notch1 junto con sus marcadores de diferenciación (loricrina, queratina 10) y p63 por activación de AhR con 6-formil indolo [3,2-b] carbazol (FICZ), a nivel de gen por PCR tiempo real y a nivel de proteína (queratina 10 e involucrina), a través de western Blot.

Para confirmar que AhR por estímulo de FICZ (y por benzo(a)pireno) se activa esta vía de señalización, se bloqueó el receptor con el inhibidor CH-223191.

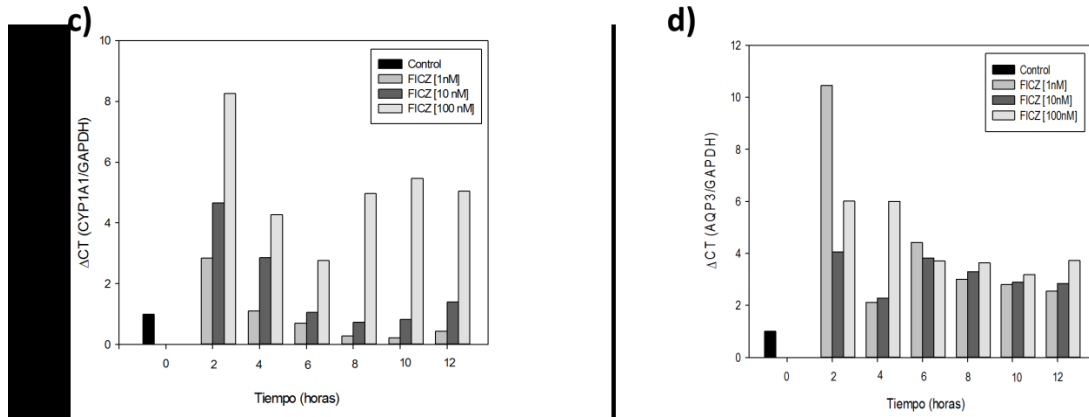
Finalmente, para evaluar si FICZ evita la diferenciación celular, se repetirán todos los ensayos en condiciones de diferenciación celular.

RESULTADOS



Ensayos de viabilidad realizados por el método de resazurina. a) Gráfica de viabilidad para diferentes concentraciones de FICZ. b) Gráfica de viabilidad para diferentes concentraciones de benzo(a) pireno.

Las concentraciones evaluadas de FICZ (1, 3, 7, 10, 30, 50 y 100 nM) como benzo (a) pireno (0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4 y 5 mM) no afectan la viabilidad de los queratinocitos en una proporción mayor al 80% y pueden considerarse como no tóxicas, según lo indica la ISO 10993-5.



Ensayos de expresión de AhR y AQP3 por PCR tiempo real. c) Expresión de CYP1A1/GAPDH (gen representativo de la vía de señalización de AhR) a diferentes concentraciones de FICZ y diferentes tiempos. d) Expresión de AQP3/GAPDH en presencia de diferentes concentraciones de FICZ y diferentes tiempos

FICZ es altamente eficiente para activar a AhR desde las primeras 2 horas del tratamiento a las concentraciones evaluadas de 1,10 y 100nM, manteniendo una activación constante en la concentración más alta hasta las 12 hrs. En cuanto a AQP3, FICZ promueve una mayor expresión de esta proteína, en todas las concentraciones y tiempos evaluados.

CONCLUSIONES

En la línea celular de queratinocitos humanos (HaCaT), FICZ y benzo (a) pireno promueven la activación de AhR; en presencia de FICZ, AQP3 aumenta su expresión.

BIBLIOGRAFÍA

1. G. J. Tortora. & S. R. Grabowski, "El Sistema Tegumentario",. In Principios de Anatomía y Fisiología (OXFORD University Press, México, 2002), Capítulo 5, pp. 143-163.
2. B. J. McMillan & C. A. Bradfield, "The Aryl Hydrocarbon Receptor sans Xenobiotics:Endogenous Function in Genetic Model System", *Mol Pharmacol*, Vol. 72, 2007, pp. 487-495.
3. K. W. Bock & C. Köhle, "Ah Receptor: Dioxin-mediated Toxic Responses as Hints to Deregulated Physiologic Functions", *Biochem Pharmacol*,Vol. 72, 2006, pp. 393-404.
4. B. Okey, "An Aryl Hydrocarbon Receptor Odyssey to the Shores of Toxicology:The Deichmann Lecture, International Congress of Toxicology –XI". *Toxicol Sci*,Vol 98, 2007, pp. 5-38.
5. Y. Shimizu, Y. Nakatsuru, M. Ichinose, Y. Takashi H. , Kume, J. Mimura, et al., "Benzo[a]pyrene Carcinogenicity is Lost in Mice Lacking the Aryl Hydrocarbon Receptor" *Pnas*, Vol. 97, 2000, pp. 779-782.
6. B. Linh-Chi, C. Tomkiewics, S. Pierre, A. Chevallier, R. Barouki, & X. Coumoul, (2015). "Regulation of Aquaporin 3 Expression by the AhR Pathway is Critical to Cell Migration" *Toxicol Sci*, Vol. 149, 2015, pp. 158-166.
7. M. Hara-Chikima, & A. S. Verkman, "Prevention of Skin Tumorigenesis and Impairment of Epidermal Cell Proliferation by Targeted Aquaporin-3 Gene Disruption" *Mol Cell Bio* 2008, pp. 326-332.
8. L. Guo, H. Chen, Y. Li, Q. Zhou, & Y. Sui, "An Aquaporin 3-Notch1 Axis in Keratinocyte Differentiation and Inflammation". *PLoS*, Vol. 8, 2013, pp. 1-10.
9. F. M. Watt, S. Estrach & C. A. Ambler, "Epidermal Notch Signalling: Differentiation, Cancer and Adhesion" *Curr Opin Cell Biol*, Vol. 20, 2008, pp. 171-179.
10. K. E. King & W. C. Weinberg, "p63: Defining Roles in Morphogenesis, Homeostasis, and Neoplasia of the Epidermis" *Mol Carcinog*,Vol. 46, 2007, pp. 716-724.
11. B. C. Nguyen, K. Lefort, A. Mandinova, D. Antonini, V. Devgan, G. Della Gata et al., "Cross-Regulation Between Notch and p63 in Keratinocyte Commitment to Differentiation"*Genes Dev* Vol. 20, 2006, pp. 1028-1042.
12. M. Kunnimalaiyaan & H. Chen, "Tumor Suppressor Role of Notch-1 Signaling in Neuroendocrine Tumors" *Oncologist* Vol. 12, 2007, pp. 535-542.
13. E. Ratovitski, "Phospho-ΔNp63α Regulates AQP3, ALOX12B, CASP14 and CLD1 Expression Through Transcription and MicroRNA Modulation" *FEBS Letters* Vol. 587, 2013, pp. 3581-3586.
14. R. Noakes, (2015). "The Aryl Hydrocarbon Receptor: A Review of its Role in the Physiology and Pathology of the Integument and its Relationship to the Tryptophan Metabolism" *Int J Tryptophan Res*,Vol. 8, 2015, pp. 7-18.
15. S. L. Park, R. Justiniano, J. D. Williams, C. M. Cabello, S. Qiao, & G. T. Wondrak, "The Tryptophan-Derived Endogenous Aryl Hydrocarbon Receptor Ligand 6-Formylindolo [3,2-b]Carbazole is a Nanomolar UVA Photosensitizer in Epidermal Keratinocytes" *J Invest Dermatol*, Vol. 00, 2015, pp. 1-10.
16. V. Kostyuk, A. Porapovich, A. Stancato, C. De Luca, D. Lulli, S. Pastore,et al., "Photo-Oxidation Products of Skin Surface Squalene Mediate Metabolic and Inflammatory Responses to Solar UV in Human Keratinocytes" *PLoS*,Vol. 7,2012, pp. 1-11.
17. E. Fritsche, C. Schäfer, C. Calles, T. Bernsmann, B. Thorsten, et al., "Lightening up the UV Response by Identification of the Arylhydrocarbon receptor as a cytoplasmatic Target for Ultraviolet B radiation", *Pnas*, Vol. 104, 2007, pp. 8851-8856.

OBTENCIÓN DE CARBÓN ACTIVADO A PARTIR DE CÁSCARAS DE NUEZ Y GRANADA

Dulce Yaret Pérez Reyna, Maribel Santiago Teodoro

Tecnológico de México/Instituto Tecnológico de Atitalaquia

RESUMEN

En este trabajo se realizó un estudio para la obtención de carbón activado a partir de cáscaras orgánicas de nuez y granada. El proceso de activación consiste en "multiplicar" la cantidad de poros de un carbón dando como resultado una estructura extremadamente porosa de gran área superficial disponible para llevar a cabo el proceso de adsorción de impurezas que provocan olor, color o sabor indeseable. La activación se llevó a cabo en dos etapas. La primera etapa consistió en impregnar el material precursor con una disolución de ácido fosfórico concentrado (H_3PO_4) como agente activante. La segunda etapa consistió en someter a la mezcla resultante a un proceso pirolítico, en el cual se produce simultáneamente la carbonización y la activación del material. Para la caracterización se empleó el método del número de yodo y azul de metileno, estos utilizados por las industrias carboneras para establecer los rangos de pureza y eficiencia del carbón. Obteniendo para la cáscara de nuez un número de yodo de 1163.78 mg I_2/g de carbón y para la granada 763.030 mg I_2/g de carbón. Estableciendo así, que la mayor porción del área superficial del carbón activado obtenido corresponde un tamaño de micro y mesoporo principalmente, ideales en aplicaciones para adsorción en fase gaseosa y líquida. Así también, se mostró la viabilidad de producir carbón activado a partir de cáscaras de nuez y granada, logrando con ello plantear una alternativa de producción de carbón activado y de esta manera reducir significativamente la deforestación y contribuir con la sustentabilidad.

INTRODUCCIÓN

Desde tiempos remotos los egipcios descubrieron que el carbón de madera podía utilizarse para purificar otros productos e incluso usarse con fines medicinales. En la actualidad, el carbón activado es utilizado para remover color, olor y sabor de una infinidad de productos, por lo cual lo podemos encontrar en aplicaciones tan sencillas como peceras o filtros de refrigerador hasta complejos sistemas industriales, modernas plantas de tratamiento de aguas residuales o delicados sistemas de elaboración de antibióticos (Leuch 2007, Delgado, Terrones y Méndez 2011).

Los procesos de activación consisten básicamente en reordenar los átomos de carbono en anillos tipo benceno para lograr una estructura cristalina reticular similar a la del grafito, en otras palabras, la activación consiste en "multiplicar" la cantidad de poros de un carbón dando como resultado una estructura extremadamente porosa de gran área superficial disponible para llevar a cabo el proceso de adsorción de impurezas que provocan olor, color o sabor indeseable. En este proyecto se realiza un estudio para la obtención de carbón activado a partir de cáscaras orgánicas, de nuez y granada. Se usarán estas materias, gracias a las propiedades encontradas que poseen, y la peculiar dureza que adquieren al disecarse, así como para reducir significativamente la deforestación de la naturaleza, y con ello darle un uso a esta materia que muchos consideran simple desperdicio, comúnmente abono para jardín. De igual manera que su recolección es sumamente accesible dentro de la Región del Valle del Mezquital y alrededores.

TEORÍA

Con el término genérico de carbón se conoce a los compuestos que tienen en su composición al elemento carbono (C), ordenado regularmente. Los átomos situados en la parte exterior de la estructura cristalina disponen de fuerzas de atracción libre, lo que les permite atraer compuestos existentes en su inmediato alrededor. Todos los átomos de carbono de una estructura cristalina se atraen unos a otros, adquiriendo una estructura ordenada (Ríos y col, 2009).

El carbón activado depende del proceso de adsorción. La adsorción es un proceso por el cual los átomos en la superficie de un sólido, atraen y retienen moléculas de otros compuestos. Estas fuerzas de atracción son conocidas como "fuerzas de Van Der Waals".

Por lo tanto, al ser un fenómeno que ocurre en la superficie mientras mayor área superficial disponible tenga un sólido, mejor adsorbente podrá ser.

De acuerdo con la terminología de la IUPAC, los poros cuyo tamaño no excede de 2 nm son llamados microporos, que son donde ocurre el fenómeno de adsorción en mayor medida, los que exceden de 50 nm son llamados macroporos, éstos juegan un papel importante en el transporte del adsorbato a través de los mesoporos hasta los microporos, los mesoporos son de tamaño intermedio a los valores mencionados (entre 2 y 50 nm). El volumen de los microporos es en general mayor de 0,2 cm³/g pudiendo alcanzar elevados valores de área de superficie específica interna. Se puede clasificar el carbón activo en granular y polvo, dependiendo del tamaño de grano del mismo. (Rodríguez Reinoso, 1986).

Por lo tanto, la capacidad de un carbón activo para retener una determinada sustancia no solo depende de su área superficial, sino también de la proporción de poros internos que tenga dicho carbón, y del tamaño de los mismos (un tamaño adecuado para un poro debe oscilar entre 1 y 5 veces el diámetro de la molécula a retener). La distribución del tamaño del poro depende fundamentalmente de tres factores: el origen de la materia prima, el tipo de activación y la duración del proceso de activación. Como se mencionó anteriormente, se propone el uso de las cáscaras de nuez y granada, debido a las propiedades y a sus posibles aplicaciones como carbón activo.

Por ejemplo; La cáscara de nuez desde tiempos remotos ha sido utilizada en diferentes actividades que van desde filtros para el agua hasta aplicaciones industriales complejas. Se conoce que México es el segundo mayor productor de nuez en el mundo y que se desechan 39,656 toneladas de cáscara de nuez anualmente. Se realizó este proyecto buscando darle a la cáscara, que normalmente se convierte en basura, un mejor uso.

La cáscara de la nuez es uno de los desechos más encontrados en los mercados mexicanos, estos sólo son utilizados en un 5%, por lo que todo lo demás es desaprovechado.

Las propiedades fisicoquímicas de la cáscara de nuez son:

- Dureza 2.5 Mohs
- Peso específico: 0.95 kg/l
- Es biodegradable
- Es seguro para la salud
- Durante su combustión produce dióxido de carbono.
- Color: marrón
- No es soluble en agua
- Su pH es neutro
- No se combustiona a temperaturas menores de 270°C
- El manejo de la cáscara molida requiere el uso de máscaras con filtro.

Por otro lado, cabe mencionar que la cáscara de granada no ha tenido un uso industrial, solamente en medicina natural, sabiendo que su producción es abundante en casi todo el territorio mexicano más en temporadas húmedas, de lluvia y cosechas, por consecuencia provoca una gran cantidad de desechos orgánicos, los cuales no tienen un uso tan aprovechable, más que abono o composta. Se trabaja en la cáscara de la granada para aprovechar el residuo del fruto que en la actualidad no se destina a un fin en particular. Con la elección de estas materias primas, se desea como objetivo principal, la obtención del carbón activado, para su uso posterior en la industria. De igual manera, aprovechar el recurso que no está siendo utilizado, contribuyendo así a la limpieza del lugar en la recolección, y de este modo contribuir con la sustentabilidad, mejora y desarrollo tanto de la zona como de la materia prima.



Fig. 1 cáscara de nuez



Fig. 2 cáscara de granada

PARTE EXPERIMENTAL

Las cáscaras orgánicas procedentes de la zona del Valle del Mezquital, se sometieron a un proceso de secado y posterior molienda, con el fin de obtener un material con un tamaño de partícula recomendada para lograr un carbón activado tipo polvo.

Las cáscaras fueron limpiadas perfectamente para dejar el resto de bagazo fuera del proceso. Después se colocaron en una estufa de secado sobre una superficie plana de aluminio con la finalidad de deshidratar las

cáscaras. A continuación, se homogenizan las cáscaras mediante un triturador y se pesa cierta cantidad de materia en cada prueba, colocándolo en un crisol.

El proceso de activación se llevó a cabo en dos etapas. La primera etapa consistió en impregnar el material precursor con una disolución de ácido fosfórico concentrado como agente activante. La segunda etapa consistió en someter a la mezcla resultante a un proceso pirolítico, en el cual se produce simultáneamente la carbonización y la activación del material. Para tal efecto las muestras fueron colocadas dentro de un horno tipo mufla a una temperatura de 600 °C por dos horas. Finalmente, el carbón activado resultante fue lavado con agua desionizada para eliminar restos del agente activante y así obtener un pH neutro; posteriormente fue secado a 100 °C y fue pulverizado para su análisis posterior.

RESULTADOS

Dentro de las pruebas preliminares se obtuvieron los siguientes resultados. Para la preparación del carbón activado por cada 12 g de cáscara de nuez se obtuvieron 8 g de carbón activado, obteniendo un rendimiento del 50%. En las siguientes figuras (figura 3 y 4) se muestra el carbón activado obtenido, en donde se observa su aspecto poroso, cualidad que debe poseer para su posible aplicación como purificador.



Fig. 3 Carbón activado obtenido



Fig. 4 Carbón activado pulverizado

Para la caracterización de nuestro carbón activado se empleó el método del número de yodo y azul de metileno, estos utilizados por las industrias carboneras para establecer los rangos de pureza y eficiencia del carbón.

La primera técnica utilizada fue la prueba del azul de metileno

El valor es registrado en mg adsorbidos de azul de metileno por gramo de carbón activado.

La capacidad de adsorción de azul de metileno fue calculada por la ecuación de balance de masa.

$$q_e = \frac{(C_o - C_e)}{W} \times V$$

Ecuación 1

Donde:

C_o =concentración inicial de azul de metileno

C_e =concentración en el equilibrio de azul de metileno (mg/L)

W es la masa del carbón (g)

V es el volumen de la solución de azul del metileno (L)

Para su elaboración se utilizó una solución de azul de metileno a 1M, obteniendo como resultado 4 mg de azul de metileno adsorbido por gramo de carbón activado.



Fig. 5 solución de azul de metileno c (1M)



Fig. 6. Adsorción del azul de metileno

El segundo método fue la determinación del número de yodo
 Para estimar el área superficial relativa y la medición de la porosidad, se utilizó el método de número de yodo.
 Para ello se utilizó el método de acuerdo a la norma NMX-F-296-SCFI-2011.

Ecuación 2
$$\frac{X}{M} = \frac{A - [(2,2 B) (mL \text{ gastados de tiosulfato})]}{(g \text{ de carbón empleados, base seca})}$$

Ecuación 3
$$C = \frac{(N_2) (mL \text{ de tiosulfato gastados})}{(25)}$$

Ecuación 4
$$\text{No. de yodo} = \left(\frac{X}{M}\right) (D)$$

Para la realización de este método se utilizaron dos soluciones, una de tiosulfato de sodio 0.1N y otra de yodo 0.1N. Primeramente, el carbón activado fue lavado con HCl al 5%. Posteriormente el carbón fue combinado con 50 ml de I₂ (0.1N), al mismo tiempo fue filtrado. Para la determinación del número de yodo, la solución resultante fue titulada con tiosulfato de sodio.

Se determinó el número de yodo de 1163.78 mg I₂ /g de carbón para la cáscara de nuez y un número de yodo de 763.030 mg I₂ /g de carbón para la cáscara de granada.

Estableciendo así, que la mayor porción del área superficial corresponde a los microporos y los mesoporos, por lo que se obtuvieron carbones activados de importancia industrial para la adsorción en fase gaseosa y líquida.



Fig. 9 Soluciones de tiosulfato y I₂



Fig. 1 HCl, para lavado



Fig. 11 Solución titulada

CONCLUSIONES

Se prepararon carbones activados a partir de cáscaras de nuez y granada. Con los datos preliminares se puede observar que el carbón activado obtenido es factible para el uso en diferentes aplicaciones, ya que se obtuvo un tamaño de poro de micro y mesoporos de acuerdo al número de yodo y prueba de azul de metileno realizado, por lo que juegan un papel muy importante en la adsorción para fases gaseosas y líquidas. Es de suma importancia en control de la calidad de ácido fosfórico utilizado, debido a que con ello se logra obtener la porosidad y el tamaño de los mismos para una adecuada retención de contaminantes.

Los carbones activados constituyen uno de los productos más utilizados en la industria, debido a su gran poder adsorbente, provocado por el área superficial extremadamente grande que poseen. Mediante este estudio se logró mostrar la viabilidad de producir carbón activado a partir de cáscaras de nuez y granada procedentes de la zona del Valle del Mezquital, logrando con ello plantear una alternativa que genere un valor agregado al carbón.

BIBLIOGRAFÍA

1. L. M. Le Leuch, y T. J Bandosz, "The role of water and surface acidity on the reactive adsorption of ammonia on modified activated carbons". *Carbon*. 2007. vol. 45, p. 568-578
2. Soo Jin, P. y Ki Dong, K. "Adsorption Behaviors of CO₂ and NH₃ on Chemically Surface-Treated Activated Carbons". *Journal of Colloid and Interface Science*. 1999. vol. 212, p.186-189.
3. M Smisek. y S Cerny, S. *Active Carbon*, New York: Elsevier Publishing Co. 1970. p.10-19.
4. Rodríguez Reynoso. "Preparation and characterization of activated carbons". En: *Carbon and Coal Gasification. Science and Technology*, Serie E: Applied Sciences. 1ra ed. UK. 1986, p. 601-609.
5. F. Marquez Montesino, T, Cordero., Rodríguez-Mirasol, J. *et al.* "CO₂ and steam gasification of a grapefruit skin char". *Fuel*. 2002. vol. 81, p.423-429.
6. R. Ríos, B. Silva, M. Wilton, Torres Eurico, B. *et al.* "Adsorption of methane in activated carbons obtained from coconut shells using H₃PO₄ chemical activation". *Adsorption*. 2009, vol. 15, p. 271-277.
7. C. Nieto Delgado, M. Terrones, J. R. y Rangel Méndez, Development of highly microporous activated carbon from the alcoholic beverage industry organic by-products". *Biomass and Bioenergy*. 2011. vol. 35, p. 103-112.
8. F. Márquez, G. Ocampo, y A. Brown, *Carbón activado de aserrín que se reactiva con ácido fosfórico*. Certificado de Invención otorgado por la Oficina Cubana de la Propiedad Industrial. OPCI. No 22 383, Certificado de Autor de Invención, 25 de abril de 1995.
9. F. Suárez Garcia, A. Martínez Alonso, J. Tascón. M. D. "Porous texture of activated carbons prepared by phosphoric acid activation of apple pulp". *Carbon*. 2001. vol. 39, p. 1111-1115.
10. D. Saha, y S. Deng, "Adsorption equilibrium and kinetics of CO₂, CH₄, N₂O, and NH₃ on ordered mesoporous carbon". *Journal of Colloid and Interface Science*. 2010. vol. 345, p. 402-409.

OBTENCIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE HIDRÓXIDO DE MAGNESIO PARA SU INCORPORACIÓN A BIOMATERIALES UTILIZADOS PARA LA INGENIERÍA DE TEJIDOS

Héctor Saucedo Martínez, Marco Aurelio Pardo Galván, Ana Edith Higareda Mendoza

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

RESUMEN

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, cuyo objetivo final es la regeneración del mismo tejido óseo. 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 biodegradables para regular la acidez; éstas, en su presentación de nanopartículas, permiten mejorar su incorporación en la matriz del polímero y buscando mejorar otras propiedades como la osteoinductividad de los biomateriales. Se ha propuesto la utilización de magnesio en forma de nanopartículas de hidróxido de magnesio ya que existe evidencia de ser una molécula altamente osteoinductora y que es un componente normal de la matriz ósea. El objetivo de este trabajo fue fabricar nanopartículas de MgOH de manera asequible y reproducible, con tamaños <500 nm e incorporarlas a una matriz polimérica de ácido poliláctico (PLA) para obtener andamios tridimensionales porosos que sean aptos para realizar estudios *in vitro* utilizando cultivos celulares.

INTRODUCCIÓN

La "ingeniería de tejidos", tanto su definición como el uso del término, apareció en la literatura en el año de 1988 por Skalak y Fox; desde ese entonces ha atraído la atención de la ciencia, la ingeniería y la medicina.¹ La ingeniería de tejidos tiene como objetivo eliminar las desventajas o problemas que presentan las terapias de reparación y regeneración de tejidos que se utilizan actualmente.² El interés de las nuevas tecnologías biológicas, como la ingeniería de tejidos, es la regeneración de tejidos, que implica la restitución íntegra del tejido dañado; a diferencia de la reparación donde se forma un tejido cicatricial con características diferentes al original.³

Actualmente, la necesidad de implantes óseos está en aumento, con más de 400,000 operaciones con injerto óseo realizadas anualmente en Europa y más de 600,000 en Estados Unidos.⁴ En México, los cambios demográficos indican que la cantidad anual de fracturas de cadera aumentará de 29,732 en 2005 a 155,874 en el 2050.⁵ En general, un proceso de ingeniería de tejidos comienza con la fabricación de un andamio compatible biológicamente, que apoyará a las células vivas para su adhesión, proliferación y diferenciación, para entonces promover la regeneración tisular.² La fabricación de estos andamios en la actualidad se lleva a cabo utilizando una gran variedad de materiales como polímeros, metales, cerámicos y algunas combinaciones de éstos. La incorporación de nanopartículas de magnesio a una matriz polimérica, a ser utilizada como andamio, busca mejorar las propiedades de biocompatibilidad y aumentar la resistencia mecánicas de los polímeros.

TEORÍA

Andamios

El andamio es una matriz tridimensional porosa que tiene como función principal la de soportar la adhesión, proliferación y migración celular, así como su diferenciación y maduración en un fenotipo osteoblástico.⁶ Para la regeneración ósea, los biomateriales deben cumplir con ciertos requisitos dependientes de su geometría, composición química y propiedades mecánicas óptimas para que la viabilidad, proliferación y regeneración celular sean posibles.²

Polímeros

Los biopolímeros tanto sintéticos como naturales han sido ampliamente utilizados en la fabricación de dispositivos médicos y de andamios en la ingeniería de tejidos debido a su excelente biocompatibilidad, composición química modificable y biodegradación ajustable; además, apoyan el crecimiento y la remodelación

del tejido durante su tiempo de vida funcional y antes de ser reabsorbido por el cuerpo. Sin embargo, el inconveniente de éstos es su fuerza mecánica inestable que los hace inapropiados para utilizarse como andamios que soporten carga.⁴

Los polímeros sintéticos, además de ser biocompatibles y biodegradables, presentan un ritmo de degradación controlable, propiedades mecánicas reproducibles y una fácil fabricación con formas moldeables y en los tamaños requeridos, con características y porosidades controlables, así como una larga vida útil y pueden ser esterilizados.⁷ Estos polímeros han sido aprobados por la FDA para su uso en aplicaciones clínicas específicas como dispositivos médicos, suturas, materiales para prótesis, materiales dentales, implantes, polímeros para la liberación controlada de fármacos, tejidos y encapsulantes.⁸ Sin embargo, la mayor desventaja que presentan muchos de los polímeros sintéticos es la liberación de productos ácidos que pueden alterar el pH del tejido circundante, causando reacciones inflamatorias al erosionarse.

Andamios de tercera generación

En la actualidad, el objetivo de los nuevos biomateriales es desarrollar compuestos que estimulen respuestas celulares específicas a nivel molecular mediante la combinación de forma controlada de la bioactividad y la bioabsorbabilidad, es decir, que sean osteoinductivos. Esta propiedad está asociada con la composición del material y la porosidad. Así, esta generación de andamios incluye la elaboración de nanomateriales compuestos con el fin de simular la matriz extracelular del hueso y con la posibilidad de utilizar el propio andamio como un sistema de administración de biomoléculas o fármacos.⁹ Los materiales mayormente utilizados en esta generación son polímeros biodegradables de origen natural o sintético como poli(α -hidroxiesteres), colágeno, ácido hialurónico y quitosano; cerámicos como vidrios de silicato, cerámicos vidriosos, alúmina, zirconia, hidroxiapatita y otros fosfatos de calcio; metales como el titanio, zirconio, acero inoxidable, aleaciones Cr-Co y nanopartículas de Mg.

Andamios con magnesio

La adición de magnesio en forma de nanopartículas, a composites de nueva generación, ha mostrado grandes resultados en combinación con polímeros sintéticos; estas nanopartículas permiten formar andamios con mayor resistencia, que soportan mayor carga y que además ayudan a regular el pH, principalmente en combinación con los derivados del ácido poliláctico o ácido poliglicólico, debido a los productos de degradación ácidos de éstos.¹⁰ Además, el magnesio se ha presentado como un gran osteoinductor al ser un componente básico en el metabolismo celular y el cual participa de manera activa en una gran cantidad de funciones celulares, algunas de las cuales pueden ayudar al desarrollo de las células en los andamios implantados, que a su vez es degradado sin ningún problema por el organismo. Aunado a esto, el magnesio es un material fácil de obtener, de bajo costo y amigable con el medio ambiente.¹¹ Debido a este potencial, existe actualmente una carrera por probar la interacción de estas partículas de magnesio en composites que ya han demostrado buenas características como andamios.

La obtención de estas nanopartículas se puede llevar a cabo por diferentes mecanismos y diversos tipos de reacciones que dan lugar a partículas de diversas formas y tamaños, por eso es importante tener una fuente de obtención de estas nanopartículas que sea reproducible, que sea rápida y asequible, y que además tenga un tamaño que nos permita su incorporación a otros biomateriales de manera homogénea.¹²

PARTE EXPERIMENTAL

Obtención de nanopartículas

Las nanopartículas de magnesio se obtienen realizando una reacción de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ con NaOH: primero, 5 g de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ y 1.6 g NaOH son disueltos en 100 y 200 mL de agua tridestilada, respectivamente. Una vez completada la disolución, la solución de NaOH es vertida, gota a gota, en la solución de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ que se encuentre en agitación constante y a temperatura ambiente. Una vez concluida la reacción, el resultante se somete a centrifugación de 3500 rpm por 5 min y se descanta el sobrenadante; el precipitado se lava múltiples veces resuspendiendo en agua tridestilada y utilizando vortex. Posteriormente, se centrifuga a 3500 rpm por 5 min y se desecha el sobrenadante, se realizan dos lavados resuspendiendo en agua tridestilada y uno en etanol 25%, luego al 50%, 75% y finalmente en etanol absoluto, esto para eliminar todas las posibles sales contaminantes. Por último, se vuelve a resuspender en etanol absoluto, se pasa a una placa Petri y se deja secar bajo flujo laminar por 24 horas, para la obtención de 1 g de nanopartículas de $\text{Mg}(\text{OH})_2$, aproximadamente.

Las partículas obtenidas se analizan por Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y Espectroscopia de Energía Dispersiva (EDS) utilizando un microscopio de la marca Jeol Ltd. modelo JSM.6400 para verificar la formación, composición y el tamaño de las nanopartículas.

Fabricación de los andamios

Los andamios se prepararán mediante la técnica de disolución y colada, con sal fusionada como agente porógeno. Al polímero (Ácido poliláctico ©GoodFellow) se le añaden las nanopartículas de magnesio para tener una proporción PLA/nMg de 80/20 wt%: se disuelven en cloroformo en una solución final del 8%, a temperatura ambiente y durante 8 horas utilizando un agitador; para la correcta dispersión de las nanopartículas, se deja 1 hora en un baño de ultrasonido. En todos los casos, la suspensión se mantiene homogénea por ultrasonido.

Para formar el andamio 3D poroso, primero se preparan los moldes de teflón de 0.9 cm de diámetro y 1 cm de alto con el agente porógeno: se llenan en un 70 % cada molde con cloruro de sodio (J.T. Baker®) en partículas que van de 50-400 μm y se incuban a 37°C y 95 % de humedad relativa para fusionar las zonas de contacto de las partículas. Enseguida, se vierten 600 μL la suspensión del composito en los moldes hasta completar el volumen del mismo y se dejan secar a temperatura ambiente. Posteriormente, se desmoldan y se sumergen en agua destilada para extraer el agente porógeno. Se realiza un cambio de agua a las 2 horas y dos más cada 24 horas aproximadamente. Finalmente, de secan a temperatura ambiente bajo flujo laminar.

La interconexión, tamaño y distribución de los poros se determinará por MEB y EDS, se analizan las imágenes utilizando el software jPOR (©Clayton Grove) para calcular el porcentaje de porosidad.

RESULTADOS

Obtención de nanopartículas de MgOH

Las imágenes obtenidas por MEB del resultante de la reacción para la formación de MgOH mostró la formación de partículas nanométricas en forma de pequeñas laminas con tamaños de partícula entre los 28 y los 213 nm, <500nm son los tamaños descritos en la literatura que facilitan la integración de partículas a una matriz polimérica (Fig. 1). El EDS realizado sobre la superficie de estas nanopartículas no muestra la aparición de elementos contaminantes, únicamente se muestran los picos esperados de magnesio y oxígeno (Fig. 2).

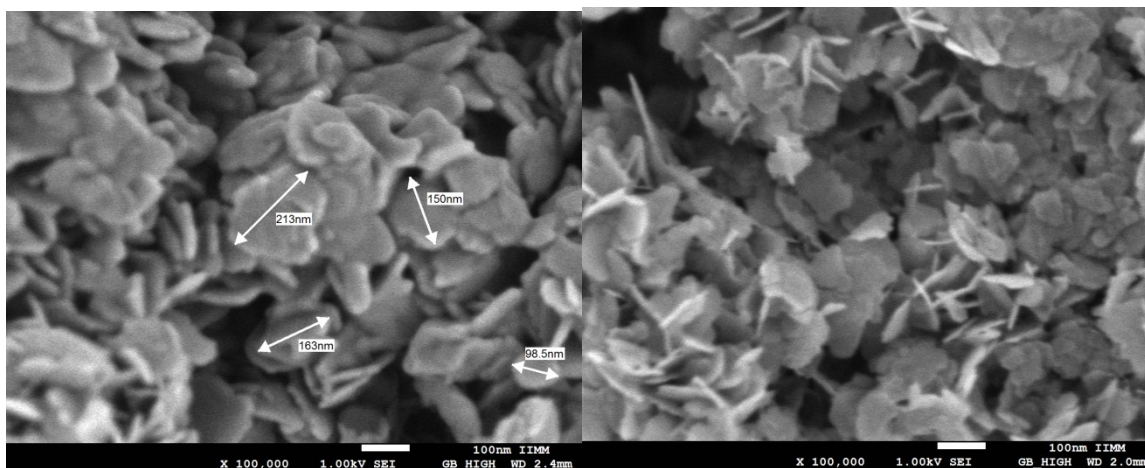


Figura1. MEB de nanopartículas de MgOH. Se confirma la presencia de nanopartículas formadas con un tamaño máximo de 218nm y con forma de láminas delgadas irregulares, demostrando la aparición de las partículas esperadas.

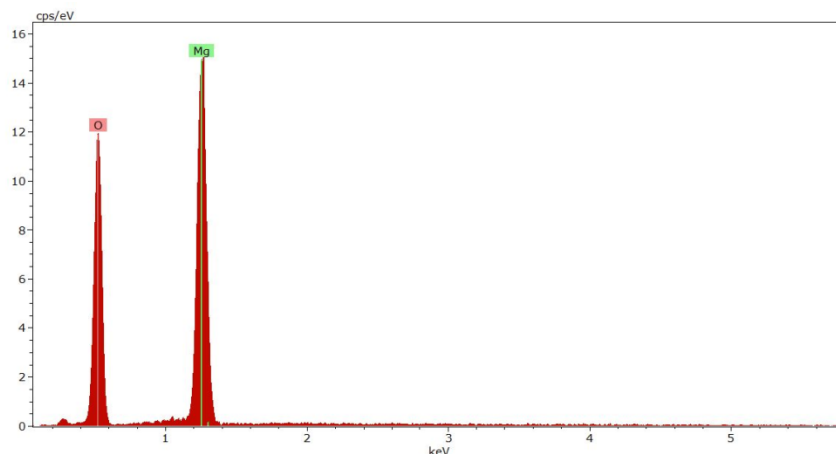


Figura 2. EDS de la superficie de las nanopartículas de MgOH. Se observa un EDS con la aparición de los elementos magnesio y oxígeno esperados en la formación de las nanopartículas y no se muestra señales de posibles elementos contaminantes.

Fabricación de andamios.

Se obtuvieron andamios de PLA/nMg (80/20 wt%) en forma de cilindros de 1cm de diámetro por 0.3 cm de alto, con porosidades superiores al 40% y tamaños de poro mayores a 100 μm , características deseadas en andamios que serán sometidos a pruebas en cultivo celular ya que son las requeridas para que las células migren dentro de la estructura del andamio (Fig. 3). El EDS arrojó resultados que confirman la obtención de andamios con adecuada distribución de nanopartículas y ausencia de elementos contaminantes, la distribución correcta de las nanopartículas es importante si se quiere un andamio que tenga una estructura que resista íntegramente los procesos de esterilización para posteriores pruebas *in vitro*, así como para que el efecto osteoinductor del magnesio se lleve a cabo de mejor manera en dichas pruebas.



Figura 3. Andamio de PLA/nMg (80/20 wt%). Los andamios porosos obtenidos en forma de cilindros de 1cm de diámetro por 0.3 cm de ancho, tamaño óptimo para posteriores estudios en cultivo celular.

CONCLUSIONES

Se obtuvieron partículas de MgOH con morfología similar a la reportada por otros, pero con mejores tamaños nanométricos que permitieron su adecuada distribución e incorporación a la matriz polimérica de PLA para

formar andamios PLA/nMg (80/20 wt%) porosos con características aptas para su utilización en estudios *in vitro* con cultivos celulares.

BIBLIOGRAFÍA

1. M. Wang, "Materials selection and scaffold fabrication for tissue engineering in orthopaedics", *Advanced Bioimaging Technologies in Assessment of the Quality of Bone and Scaffold Materials: Techniques and Applications.*, 2007, pp.259–288.
2. B. Thavornyutikarn, N. Chantarapanich, K. Sitthiseripratip, G. A. Thouas & Q. Chen, "Bone tissue-engineering scaffolding: computer-aided scaffolding techniques", *Progress in Biomaterials.*, Vol.3, 2, 2014, pp. 61–102.
3. A. Larena-Pellejero, "Aplicaciones de nuevos nanomateriales en cirugía ortopédica y traumatología", *Pat Aparato Locomotor.*, Vol.5, 2, 2007, pp. 116–124.
4. S. Wu, X. Liu, K. W. Yeung, C. Liu & X. Yang, "Biomimetic porous scaffolds for bone tissue engineering", *Materials Science and Engineering: R: Reports.*, Vol. 80, 2014, pp.1–36.
5. F. Carlos, P. Clark, R. M. Galindo-Suárez & L. G. Chico-Barba, "Health care costs of osteopenia, osteoporosis, and fragility fractures in Mexico", *Archives of Osteoporosis.*, Vol.8,1, 2013, pp.125
6. J. F. Alvarez, "Regeneración ósea a través de la ingeniería de tejidos: una introducción", *Revista de estudios transdisciplinarios.*, Vol.1, 2, 2009. Serie verde.
7. M. M. Stevens. "Biomaterials for bone tissue engineering", *Materials Today.*, Vol.11, 5, 2008, 18–25.
8. C. M. Murphy, F. J. O'Brien, D. G. Little & A. Schindeler, "Cell-scaffold interactions in the bone tissue engineering triad", *European Cells and Materials.* Vol. 26, 2013, pp. 120-132.
9. J. P. Cattalini, J. García, A. R. Boccaccini, S. Lucangioli & V. Mouriño, "A New Calcium Releasing Nanocomposite Biomaterial for Bone Tissue Engineering Scaffolds", *Procedia Engineering.*, Vol. 59, 2013, pp. 78-84.
10. H. W. Lee, S. H. Seo, C. H. Kum, B. J. Park, Y. K. Joung, T. Il Son, & D. K. Han, "Fabrication and characteristics of anti-inflammatory magnesium hydroxide incorporated PLGA scaffolds formed with various porogen materials", *Macromolecular Research.*, Vol.22, 2, 2014, pp. 210–218.
11. D. J. Hickey, B. Ercan, L. Sun & T. J. Webster, "Adding MgO nanoparticles to hydroxyapatite-PLLA nanocomposites for improved bone tissue engineering applications", *Acta Biomaterialia.*, Vol.14, 2015, pp. 175–184.
12. H. Kum, S. H. Seo, S.N. Kang, B.J. Park, , D.J. Ahn, Y. K. Joung, & D. K. Han, "Effect of magnesium hydroxide nanoparticles with rod and plate shape on mechanical and biological properties of poly(L-lactide) composites", *Macromolecular Research.*, Vol.22, 9, 2014, pp.1032–1041.

ESTRÉS OXIDATIVO POR INTOXICACIÓN CON PLOMO Y SU EFECTO EN LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA GLUTATION S-TRANSFERASA

Héctor Antonio Jacinto Sánchez, Diego Feliciano Cruz, Lucero Vázquez Velasco y Leticia Guadalupe Navarro Moreno

Universidad del Papaloapan, Campus Tuxtepec Av. Circuito Central No. 200. Colonia Parque Industrial, Tuxtepec, Oaxaca. C.P 68301. Correo electrónico: jash0591@gmail.com

RESUMEN

En este trabajo se presentarán los efectos del plomo sobre la actividad enzimática de la Glutación S-transferasa y su relación con la generación de especies reactivas de oxígeno. Se conformaron siete grupos de ratas Wistar macho de 250 gramos de peso en promedio y se le aplicaron dosis de acetato de plomo vía intraperitoneal con un intervalo de 48 horas entre cada dosis en un total de siete administraciones. Se estableció un grupo control el cual no fue inyectado. Las muestras biológicas para determinar la actividad de la enzima y las EROS fueron riñón, hígado y cerebro, órganos que resultan ser de los más afectados por la exposición al metal. Se determinó la actividad de GST siguiendo un método estandarizado. La determinación de las especies reactivas de oxígeno se realizó siguiendo un método estandarizado. Resultados. Durante el curso de la intoxicación con plomo los animales presentaron cambios fisiológicos (pelos erizados, disminución del apetito, hiperactividad y diarrea). Al medir la actividad de GST se observó que existe un incremento en la actividad en función de la dosis. Estos resultados serán correlacionados con la determinación de EROS y plomo en cada órgano. Conclusiones. Existe una posible correlación entre la actividad de GST, el daño por plomo y las EROS.

INTRODUCCIÓN

El plomo es un metal químicamente versátil que se ha usado desde tiempos antiguos. Desde el tiempo de los romanos ya se registraban intoxicaciones por plomo por exposición doméstica y exposición ocupacional, mismos que en la época actual se siguen reportando. Actualmente la Organización Mundial de la Salud (OMS) considera la intoxicación por plomo como un problema de salud pública causada por la industrialización en países tanto en vías de desarrollo y desarrollados ya que este metal puede ocasionar daño a nivel fisiológico involucrando órganos como el cerebro, el hígado y el riñón¹. La intoxicación por plomo puede inducir el estrés oxidativo por vía de la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO's)²; en los órganos ya mencionados. La Glutación S-transferasa (GST) pertenece a una familia de enzimas que se encuentran distribuidas ampliamente en la mayoría de los seres vivos y participa principalmente en la fase Fase II del metabolismo de los xenobióticos realizando la conjugación del glutatión reducido (GSH) con compuestos que contienen un centro electrofílico^{3, 4}. Además, se ha propuesto que la enzima podría tener un papel primordial relacionado con las especies reactivas de oxígeno metabolizando hidroxiperoxilos en el proceso de lipoperoxidación protegiendo a las macromoléculas celulares de la oxidación³. Se ha observado que su actividad enzimática puede ser inhibida por acción directa del plomo, lo que podría deberse a que el plomo presenta alta afinidad por los grupos sulfhidrilo (-SH) de proteínas, enzimas y glutatión reducido (GSH); al unirse a una estructura catalítica, el plomo podría reducir la actividad de la Glutación S-transferasa alterando su función^{5, 6}.

METODOLOGÍA

Se conformaron siete grupos de ratas Wistar macho de 250 gramos de peso en promedio y se les aplicaron dosis de acetato de plomo (25 mg de plomo/Kg de peso) vía intraperitoneal con un intervalo de 48 horas entre cada dosis en un total de siete administraciones. Se estableció un grupo control el cual no fue inyectado. El esquema se presenta en la tabla 1.

Tabla 1. Esquema de intoxicación con plomo

Esquema de intoxicación. (acetato de plomo 25 mg/Kg)	
Grupo	Dosis
control	No se aplicará plomo
1	Una
2	Dos
3	Tres
4	Cuatro
5	Cinco
6	Seis
7	Siete
Vía intraperitoneal. Cada 48 horas	

Medición de la actividad de la enzima Glutación S-transferasa (GST) en cerebro, hígado y riñón. En una celda de vidrio se agregó el volumen correspondiente de un amortiguador de fosfatos 0.1 M y pH 6.5, el sustrato 2,4-dinitroclorobenceno a una concentración final de 1 mM y el ligante glutatión reducido también a una concentración final de 1 Mm⁷. Esta mezcla se homogenizó por inversión y finalmente se adicionó el volumen correspondiente a 1 mg/ml de proteína total. Se midió la absorbancia a 350 nm por un tiempo de cinco minutos con intervalos de 20 segundos en un espectrofotómetro UV/Vis (Perkin Elmer Lambda 25).

Medición de especies reactivas de oxígeno en muestras de homogenado de cerebro, hígado y riñón. Se agregó en un tubo de ensayo 0.2 mL de homogenado + 0.8 mL PBS (buffer de fosfato salino). Para llevar a cabo la reacción se adicionó 0.025 mililitros de butirilhidroxitolueno (BHT) y 300 microlitros de ácido tricloroacético (TCA) al 30%. Posteriormente se agitó en un vortex y se colocó en hielo durante 2 horas. Pasado el tiempo se centrifugó en una microcentrifuga (Eppendorf Centrifuge 5424) a 2000 rpm por un tiempo de 15 minutos. Al terminar el tiempo se separó el sobrenadante y un mililitro de éste se adicionó a un tubo de ensayo limpio, se añadió 0.075 mililitros de ácido etilendiaminotretaacético (EDTA) 0.1M y 0.25 mililitros de una solución 1% de ácido tiobarbitúrico (TBA). Finalmente, la mezcla se agitó y se colocó a ebullición en un baño maría por un tiempo de 15 minutos. Terminado el tiempo, se dejó enfriar y se midió la absorbancia a 532 y 600 nm en el espectrofotómetro UV/VIS (Perkin Elmer Lambda 25)⁸.

RESULTADOS

Durante el curso de la intoxicación con plomo los animales presentaron cambios fisiológicos (cabellos erizados, disminución del apetito, hiperactividad y diarrea), lo que representa alteraciones fisiológicas por el metal en el organismo de los animales expuestos. A continuación, se muestran los resultados obtenidos para las especies reactivas de oxígeno y la actividad de GST para riñón, hígado y cerebro.

Al determinar la concentración de especies reactivas de oxígeno en el riñón del grupo control se obtuvo un promedio de 27.81 picomol/mg de proteína. Se observó una tendencia a disminuir la concentración de las especies reactivas de oxígeno para los grupos de dos dosis, tres dosis, cuatro dosis, cinco dosis. En contraste con el grupo de una dosis que mostró una mayor concentración de especies reactivas de oxígeno con un promedio de 286.32 picomol/mg de proteína. Los grupos de seis y siete dosis, mostraron una concentración cercana a la del grupo control. La actividad enzimática promedio para el grupo control fue de 3.84 µmol/ mg de proteína. Se observó un incremento de la actividad en función de la dosis administrada, obteniendo un mayor incremento de la misma en los grupos a los que se les administró una, tres y cinco dosis con un valor promedio de 7.07, 7.24 y 10.89 µmol/ mg de proteína. Estos resultados podrían estar relacionados con la concentración de las especies reactivas de oxígeno generadas como consecuencia de la intoxicación con plomo. La tabla 2 muestra los resultados obtenidos.

Tabla 2. Especies reactivas de oxígeno y actividad de GST en riñón de ratas expuestas a plomo.

	Concentración de ERO's (pmol EROs/1 mg de proteína)	Actividad enzimática de la Glutación S-transferasa (µmol/mg/min)
CONTROL	27.81 ± 2.26	3.84 ± 1.51
UNA DOSIS	268.32 ± 55.94	7.07 ± 1.39

DOS DOSIS	15.59 ± 3.68	6.65 ± 0.92
TRES DOSIS	17.88 ± 5.88	7.24 ± 2.03
CUATRO DOSIS	10.06 ± 0.91	4.48 ± 1.00
CINCO DOSIS	15.47 ± 2.88	10.89 ± 3.16
SEIS DOSIS	24.65 ± 2.02	3.69 ± 1.32
SIETE DOSIS	25.24 ± 2.24	4.00 ± 1.20

La concentración de especies reactivas de oxígeno para el grupo control en el hígado mostró un promedio de 27.63 picomol/mg de proteína. Los grupos de una dosis y cinco dosis mostraron un incremento de la concentración de las especies reactivas de oxígeno con respecto al grupo control con un promedio de 155.86 y 30.92 picomol/mg de proteína respectivamente. La actividad de la enzima GST en hígado del grupo control fue de 28.19 µmol/ mg de proteína. La actividad de la enzima en los grupos intoxicados con plomo disminuyó ligeramente, pero destacando el grupo de 5 dosis con un promedio de 9.97 µmol/ mg de proteína, esto podría indicar que el plomo, al interactuar con la enzima, podría causar la disminución de la actividad catalítica como resultado de un efecto directo del plomo.

Tabla 3. Especies reactivas de oxígeno y actividad de GST en hígado de ratas expuestas a plomo.

	Concentración de ERO's (pmol EROs/1 mg de proteína)	Actividad enzimática de la Glutación S-transferasa (µmol/mg/min)
CONTROL	27.63 ± 4.45	28.19 ± 6.76
UNA DOSIS	155.86 ± 58.90	21.44 ± 6.53
DOS DOSIS	14.29 ± 2.24	16.23 ± 7.36
TRES DOSIS	13.65 ± 2.07	17.11 ± 4.65
CUATRO DOSIS	10.60 ± 4.43	25.24 ± 3.99
CINCO DOSIS	30.92 ± 20.91	9.97 ± 5.34
SEIS DOSIS	18.43 ± 5.58	17.64 ± 5.40
SIETE DOSIS	16.60 ± 1.74	15.00 ± 2.48

En cuanto a la concentración de las especies reactivas de oxígeno en cerebro, el grupo control mostró una concentración de 22.46 picomol/miligramo de proteína. Los grupos de una dosis y siete dosis presentaron una concentración de 133.64 y 27.90 picomol/mg de proteína respectivamente. Al medir la actividad de la enzima GST en cerebro del grupo control, se obtuvo un promedio de 4.97 µmol/ mg de proteína. Se observó que existe un aumento de la actividad de la enzima relacionada con el número de dosis administradas. Los grupos de una dosis y siete dosis mostraron gran incremento de la actividad con respecto al control, 6.81 y 6.74 µmol/ mg de proteína. Esto puede estar relacionado con la concentración de especies reactivas de oxígeno, que de la misma manera estarían reflejando un posible daño generado por la exposición a plomo. La tabla 4 muestra los resultados obtenidos.

Tabla 4. Especies reactivas de oxígeno y actividad de GST en cerebro de ratas expuestas a plomo.

	Concentración de ERO's (pmol EROs/1 mg de proteína)	Actividad enzimática de la Glutación S-transferasa (µmol/mg/min)
CONTROL	22.46 ± 2.08	4.97 ± 0.63
UNA DOSIS	133.64 ± 44.53	6.81 ± 0.83
DOS DOSIS	20.35 ± 2.67	5.18 ± 0.94
TRES DOSIS	17.45 ± 2.80	5.75 ± 1.45
CUATRO DOSIS	9.89 ± 0.98	4.81 ± 0.60
CINCO DOSIS	17.38 ± 1.82	5.23 ± 1.00
SEIS DOSIS	20.08 ± 2.51	5.86 ± 0.72
SIETE DOSIS	27.90 ± 3.93	6.74 ± 0.87

CONCLUSIONES

Los daños que puede ocasionar el plomo en un organismo dependerán de la susceptibilidad del individuo, del tipo de agente tóxico, de la concentración del mismo, del tiempo de exposición y del tipo de exposición al metal. En trabajos anteriores se ha demostrado la existencia de una relación entre la exposición a plomo, la generación de especies reactivas de oxígeno y la actividad de la enzima GST. Los resultados observados, hasta este momento, en el presente trabajo apoyan la idea anterior ya que al analizar los resultados se observó que la actividad de la enzima Glutatión S-transferasa tiene una relación con la concentración de especies reactivas de oxígeno y, a la vez, la intoxicación con plomo. Se puede proponer que el aumento de la actividad catalítica de la enzima constituya, por un lado, un mecanismo de defensa contra las especies reactivas de oxígeno ocasionadas por el plomo o, por otro lado, un posible indicador de daño en cerebro y riñón, siendo más notorio en este último órgano.

BIBLIOGRAFÍA

1. Tong S., von Schirnding Y. and Tippawan P. 2000. "Environmental lead exposure: a public health problem of global dimensions", *Bulletin of the World Health Organization* 78 (9) pp. 1068-1077.
2. Almeida A., Peixe T., Mesas A., Paoliello M. 2016. "Lead Exposure and Oxidative Stress: A Systematic Review", *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 236 pp. 193-238.
3. Hayes, J. D. (1995). "The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance." *Crit Rev Biochem Mol Biol* 30 (6): 445-600.
4. Armstrong R. N. (1991). "Glutathione S-transferases: reaction mechanism, structure, and function." *Chemical Research in Toxicology* 4 (2): 131-140.
5. Hernández M. (2013). "Estudio de los efectos del plomo en roedores desde una perspectiva quimiométrica". Tesis de licenciatura en ciencias químicas.
6. Martínez, S. A., L. M. Cancela and M. B. Virgolini (2011). "El estrés oxidativo como mecanismo de acción del plomo: Implicancias terapéuticas." *Acta toxicológica argentina* 19: 61-79.
7. Jacoby W. (1985). Glutathione Transferases: An Overview. *Methods in Enzymology*. 61: 495-496
8. Ohkawa H., Ohishi N. and Yagi K. (1979). Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. *Analytical Biochemistry*. **95**: 351-358.

ANÁLISIS DE LA CONCENTRACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE BIOMETALES EN DIVERSOS ÓRGANOS Y TEJIDOS DE RATAS WISTAR DESNUTRIDAS.

Alma Isabel Santos Díaz, Ismael Jiménez Estrada y Fanis Missirlis

Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Politécnico Nacional, Zacatenco, Ciudad de México
Área Académica de Nutrición, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca sd.almaisabel@gmail.com

RESUMEN

La desnutrición es un problema común en México y a nivel mundial. El consumo inadecuado de alimentos de las madres en el embarazo y lactancia lleva a alteraciones en la descendencia. También se sabe que la deficiencia de cualquiera de los elementos traza puede tener como resultado diversas manifestaciones clínicas ya que cada elemento está relacionado con muchos sistemas enzimáticos. El objetivo de este trabajo es investigar si existen cambios en los niveles de metales almacenados en los diversos órganos de la rata desnutrida sometida a una dieta hipocalórica extrema, pero normal respecto a concentración de metales. Los resultados obtenidos muestran que los animales nacidos y crecidos en la dieta restringida varían algunos elementos en distintos órganos, frecuentemente aumentando la concentración de estos., también se determinó una disminución en la concentración de sodio en el corazón del animal desnutrido, y aumento de potasio. Además, se observó un aumento en la concentración de zinc en el músculo del animal desnutrido.

INTRODUCCIÓN

La desnutrición es un problema común en México y a nivel mundial. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) la desnutrición se define como el desequilibrio entre el suministro de nutrientes y energía, y la demanda del cuerpo para que puedan garantizar el crecimiento, mantenimiento y funciones específicas. El consumo inadecuado de alimentos de las madres en el embarazo y lactancia lleva a alteraciones en la descendencia.¹ También se sabe que la deficiencia de cualquiera de los elementos traza (metales) puede tener como resultado diversas manifestaciones clínicas ya que cada elemento está relacionado con muchos sistemas enzimáticos.² Además, las deficiencias de estos micronutrientes tienen efectos profundos, y a menudo persistentes en muchos tejidos y órganos, incluso en ausencia de signos clínicos de deficiencia.³ El objetivo de este trabajo es investigar si existen cambios en los niveles de metales almacenados en los diversos órganos de la rata desnutrida sometida a una dieta hipocalórica extrema, pero normal respecto a concentración de metales.

METODOLOGIA

Dos grupos de Ratas Wistar hembras fueron mantenidas bajo las siguientes condiciones de alimentación: en el grupo control las ratas hembras junto a su descendencia tienen libre acceso de comida (Formulab 5008, Lab diet) y agua. El grupo experimental mantuvo el 50% de consumo de alimento de una rata control y acceso libre a agua. Esta restricción empezó 3 semanas antes de aparear a la madre y continuo durante el embarazo de la madre, lactancia y posteriormente, las crías fueron sometidas al mismo régimen alimenticio hasta los 60 días de edad.⁴ Subsecuentemente, se seleccionaron 6 crías macho control con un peso de 280 g (+/- 5) y 5 ratas experimental con un peso de 90g (+/- 10). El sacrificio consistió en el desnuque del animal, para posteriormente extraer diversos órganos y tejidos: hígado, intestino delgado y grueso, musculo, corazón, pulmón, cerebro, médula espinal, riñón, bazo y páncreas, los cuales fueron almacenados a -80° antes de ser digeridos. Los tejidos fueron liofilizados durante 36 horas, para posteriormente ser pesados y digeridos con ácido nítrico Fluka Trace en el sistema de microondas Mars6 CEM. El análisis de la concentración de metales se realizó por Plasma de Acoplamiento Inductivo con Espectrofotómetro de Emisión Óptico (ICP-OES) (PerkinElmer Optima 8300) donde se midieron concentraciones de Zn, Fe, Cu, Mn, Mg, Na, K, P y S. El análisis estadístico se realizó en el programa Excel.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos muestran que los animales nacidos y crecidos en dieta restringida, si variaron su concentración de elementos comparados con el grupo control, en distintos órganos, frecuentemente aumentando la concentración en estos (Tabla 1).

Tabla 1. Promedio de mediciones de 9 elementos y comparación estadística entre los dos grupos.

	animals	Zn - mean	T-Test	Fe - mean	T-Test	Na - mean	T-Test	K - mean	T-Test	Mg - mean	T-Test	P - mean	T-Test	S - mean	T-Test	Cu - mean	T-Test	Mn - mean	T-Test
I. Delgado Ctlol	6 [3-3-3-2-3]	0.098		0.094		3.8		13.9		1.07		15.85		19.29		0.006		0.0060	
I. Delgado DN	5 [3-3-3-1-2]	0.111	0.03	0.121	0.1	4.2	0.23	16.0	0.0005	1.27	0.0004	17.24	0.01	21.06	0.01	0.005	0.08	0.0053	0.21
I. Grueso Ctlol	6 [3-3-3-2-2]	0.122		0.078		2.8		12.9		1.07		13.81		18.44		0.004		0.0161	
I. Grueso DN	5 [2-2-2-1-1]	0.156	0.25	0.091	0.2	3.2	0.06	15.2	0.03	1.26	0.16	14.78	0.18	21.24	0.01	0.005	0.50	0.0201	0.48
Hígado Ctlol	6 [3-3-3-3-3]	0.102		0.403		1.9		10.8		0.82		13.06		17.07		0.014		0.0063	
Hígado DN	5 [3-3-3-3-3]	0.114	0.25	0.410	0.9	2.2	0.13	10.9	0.87	0.88	0.03	13.47	0.42	18.47	0.07	0.022	0.07	0.0074	0.10
Pulmón Ctlol	6 [3-3-3-3-3]	0.097		0.448		5.7		12.4		0.69		11.49		22.31		0.006		0.0006	
Pulmón DN	5 [1-1-1-2-2]	0.093	0.80	0.372	0.2	5.9	0.28	12.6	0.49	0.70	0.63	12.17	0.07	22.68	0.38	0.006	0.76	0.0005	0.06
Corazón Ctlol	6 [2-2-2-3-3]	0.068		0.439		4.3		12.7		1.00		11.02		26.60		0.016		0.0010	
Corazón DN	5 [1-1-1-2-2]	0.074	0.09	0.396	0.5	3.8	0.02	13.7	0.01	1.02	0.68	11.58	0.23	26.14	0.76	0.018	0.39	0.0009	0.24
Músculo Ctlol	6 [3-3-3-3-2]	0.051		0.051		2.4		15.6		1.35		11.94		27.96		0.003		0.0004	
Músculo DN	5 [1-1-1-2-2]	0.093	0.005	0.082	0.01	3.1	0.04	17.9	0.02	1.30	0.34	11.68	0.46	27.96	1.00	0.002	0.15	0.0003	0.85
Cerebro Ctlol	6 [2-2-2-2-2]	0.061		0.078		4.0		16.4		0.72		14.69		7.80		0.009		0.0013	
Cerebro DN	5 [2-2-2-2-2]	0.068	0.10	0.098	0.3	4.2	0.40	19.7	0.02	0.83	0.07	17.63	0.03	8.81	0.12	0.011	0.16	0.0014	0.60
Riñón Ctlol	6 [3-3-3-3-3]	0.089		0.224		4.8		11.4		0.84		12.47		12.31		0.026		0.0031	
Riñón DN	4 [2-2-2-2]	0.096	0.40	0.300	0.01	5.4	0.18	13.7	0.02	0.95	0.12	14.22	0.09	13.08	0.24	0.030	0.25	0.0035	0.34
Bazo Ctlol	6 [2-2-2-2-3-2]	0.095		0.618		2.2		19.3		1.11		18.50		21.51		0.006		0.0006	
Bazo DN	4 [1-1-1-2]	0.101	0.55	0.587	0.6	2.2	1.00	20.1	0.18	1.17	0.29	19.44	0.34	22.93	0.14	0.005	0.51	0.0005	0.66
Páncreas Ctlol	6 [3-2-2-3-3-3]	0.079		0.105		3.2		12.6		0.67		10.75		9.51		0.003		0.0027	
Páncreas DN	5 [1-1-1-1-2]	0.096	0.21	0.088	0.3	3.0	0.77	14.5	0.34	1.18	0.01	17.47	0.01	16.72	0.002	0.004	0.50	0.0045	0.01
Médula Ctlol	5 [2-2-3-1-2]	0.042		0.110		3.2		8.8		0.74		20.54		8.09		0.007		0.0014	
Médula DN	5 [2-2-2-1-2]	0.037	0.32	0.075	0.01	2.9	0.13	9.0	0.73	0.70	0.42	18.40	0.15	7.63	0.24	0.005	0.29	0.0016	0.37

El zinc tiene una concentración incrementada en el músculo del animal desnutrido (Figura1A). El corazón de la rata desnutrida presenta una disminución en la concentración de sodio y aumento de potasio resultando en un razón alterado entre potasio y sodio en este organo (Figura 2B).

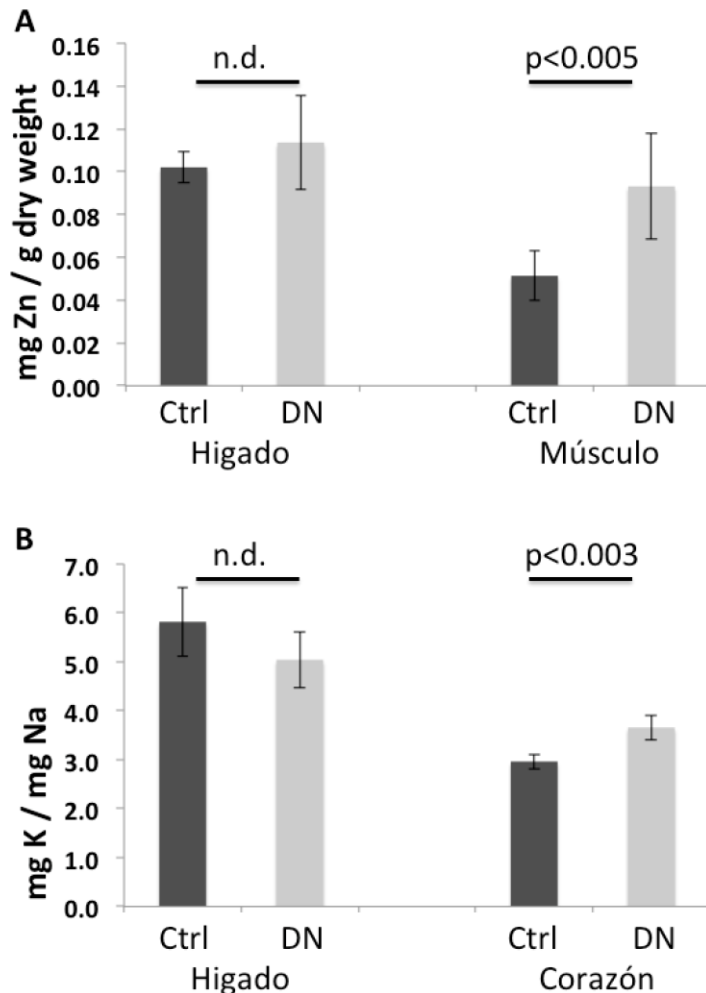


Figura 1. Se muestra el promedio de mediciones, la desviación estandar y la comparación estadística por T-Test entre los dos grupos.

A) El zinc no se encuentra cambiado en higado, pero sí en músculo.

B) No hay diferencia significativa al calcular el razón K/Na en higado, pero sí en corazón.

DISCUSIÓN

Las altas concentraciones de zinc en el músculo de la rata desnutrida son un indicativo de atrofia muscular.^{4,6} El aumento en la concentración de zinc podría promover la síntesis de proteínas para la regeneración del tejido dañado. La disfunción cardiaca, es un proceso que se ve íntimamente relacionado con distrofia muscular.⁶ El corazón de la rata desnutrida presenta una disminución en la concentración de sodio y aumento de potasio, lo cual podría ser un indicativo en la función de la *bomba Na-K*. Un aumento en la función de la bomba Na-K explicaría nuestras observaciones.⁵

REFERENCIAS

1. Lennmarken C, Sandstedt S, Croner S, Symreng T, Larsson J. Muscle metabolic changes in severe malnutrition effect of total parenteral nutrition. *Clinical Nutrition* 3, 41–45 (1984)

2. Bhattacharya PT, Ranjan Misra S, Hussain M. Nutritional Aspects of Essential Trace Elements in Oral Health and Disease: An Extensive Review. *Scientifica* 2016, 1-13 (2016)
3. Raghunath M, Venu L, Padmavathi I, Kishore YD, Ganeshan M, Anand Kumar K, Sainath PB, Rao KR. Modulation of macronutrient metabolism in the offspring by maternal micronutrient deficiency in experimental animals. *Indian J Med (Los Angeles)* 130(5):655-65 (2010)
4. Pereyra-Venegas J, Segura-Alegría B, Guadarrama-Olmos JC, Mariscal-Tovar S, Quiróz-González S, Jiménez-Estrada I. Effects provoked by chronic undernourishment on the fibre type composition and contractility of fast muscles in male and female developing rats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (Berlin)* 99, 974-86 (2015)
5. Fabiansen C, Lykke M, Hother AL, Koch J, Nielsen OB, Hunter I, Goetze JP, Friis H, Thymann T. Cardiac Dysfunction in a Porcine Model of Pediatric Malnutrition. *PLoS One.* 10, e0140472 (2015)
6. Alice J. Crawford, Syamalk. Bhattacharya, Excessive Intracellular Zinc Accumulation in Cardiac and Skeletal Muscles of Dystrophic Hamsters. *Experimental Neurology* 95,265-276 (1987)

DESARROLLO DE UN SIMULADOR PARA LA ENSEÑANZA DE LA DISOLUCIÓN DE FÁRMACOS

Sheng-li Chilián Herrera, Marleni Reyes Monreal, Arturo Reyes Lazalde,
María Eugenia Pérez Bonilla

Facultad de Artes Plásticas BUAP, Puebla, Pue. México
Facultad de Ciencias Biológicas BUAP, Puebla, Pue. México.

RESUMEN

El principio activo de un fármaco es entregado en una formulación. Este debe ser liberado y después disuelto. Un excipiente no adecuado podría ocasionar que el proceso de disolución tuviera una cinética lenta; cuando esto sucede, y el proceso de absorción es rápido, lo mismo que la desintegración y disgregación, entonces la disolución es la limitante. La biodisponibilidad podría no ser adecuada u óptima de acuerdo con su acción farmacológica (concentración óptima del fármaco en los tiempos adecuados). Para que un fármaco ejerza su efecto debe encontrarse en estado molecular libre y disuelto. El estudio de la disolución es importante en la fase biofarmacéutica. En este trabajo se presenta el desarrollo de un simulador del proceso de disolución del fármaco. El simulador está basado en los trabajos de Noyes, Whitney y de Parrot. Se utilizó el lenguaje Visual Basic 6.0 para ambiente Windows®. El simulador cuenta con una interfaz donde se muestra un recuadro para la gráfica del porcentaje de fármaco disuelto con respecto al tiempo. Del lado derecho, se muestran los recuadros de ingreso de datos: (1) El coeficiente de difusión, (2) el volumen del disolvente, (3) grosor de la capa estacionaria, en condiciones constantes, (4) la concentración del soluto y (5) la concentración de saturación del sólido. El usuario puede modificar cada una de las variables de entrada y observar los cambios que se producen en el porcentaje de disolución. En el modelo cinético, la pendiente de la recta corresponde a la constante de disolución.

INTRODUCCIÓN

Cuando se administra un fármaco se busca que sea eficaz y se logre la curación del paciente. El medicamento es administrado en un vehículo o excipiente y tiene que ser liberado el principio activo. Una vez dentro del organismo el fármaco pasa por tres etapas: (1) desintegración, (2) disgregación y (3) disolución. La separación del principio activo del vehículo ocurre a nivel molecular y depende en gran medida de las características del excipiente. Se trata de crear el ambiente adecuado para que el fármaco se absorba correctamente. Debido a las características del excipiente diferentes marcas comerciales de un mismo medicamento pueden presentar diferentes bioequivalencias. Sin especificar, desde luego, un medicamento de bajo costo, por ejemplo, podría alcanzar concentraciones plasmáticas distintas y en consecuencia efectos terapéuticos diferentes. Por esta razón, llamamos la atención para preferir medicamentos de calidad. De lo contrario la dosificación tiene que ser recalculada para conseguir los mismos efectos terapéuticos.

Para que exista disolución el medicamento tiene que estar sólido (pastilla, tableta); debido a que un medicamento en forma de solución ya está en estado disuelto. Una vez que se realiza la desintegración y disgregación ocurre la disolución. El tiempo que es necesario para la disolución depende de varios factores: (1) el área superficial de sólido, (2) la cubierta de la pastilla o tableta, (3) la concentración del sólido en el medio de disolución, (4) la concentración del sólido en la capa de disolución que lo rodea, (5) el grosor de la capa de difusión y (6) el coeficiente de difusión^[1]. Algunos de estos factores se pueden controlar desde la fabricación del medicamento. Por ejemplo, que se encuentre en estado cristalino o amorfo, o que cuente con capa entérica.

La velocidad de disolución depende del área de superficie del fármaco expuesto al medio de disolución. Cuando esta superficie se mantiene estable el proceso es lineal y se dice que corresponde a una cinética de orden cero. En tanto que, cuando la superficie es variable el proceso es no lineal y sigue una cinética de orden uno^[2].

Existen al menos dos formas para el estudio de la disolución de un fármaco: (1) el estudio con el fármaco en estado puro (sin excipiente). Aquí se calcula relativamente fácil la constante de disolución (k , ecuación 1). (2) fármaco con excipiente; en este caso, es necesario utilizar la ecuación de Noyes-Whitney (o sus modificaciones) para el estudio de su cinética y obtener la constante de disolución intrínseca (ecuación 2)^[2].

La constante de disolución intrínseca (k) está en función del coeficiente de difusión D (cm^2/s) y la película del líquido (cm) que rodea al fármaco:

$$k = \frac{D}{l} \quad (1)$$

Cuando $k > 1$, la absorción es alta y sin problemas in vivo

$k < 0.1$, existen problemas de absorción del fármaco

$0.1 < k < 1$ la absorción es intermedia

La velocidad de disolución de acuerdo a la ecuación de Noyes-Whitney^[2] es:

$$\frac{dw}{dt} = \frac{(D \cdot A \cdot (C_s - C))}{h} \quad (2)$$

Donde:

D = coeficiente de difusión

h = espesor de la capa de difusión

A = área de superficie del sólido (fármaco)

C_s = concentración del fármaco en saturación

La ecuación de Noyes-Whitney en términos de la constante de disolución intrínseca es:

$$\frac{dM}{dt} = -k \cdot A \cdot (C_s - C) \quad (3)$$

Donde:

dM/dt = masa de la sustancia que permanece sin disolver

k = constante de velocidad de disolución intrínseca

A = área de superficie del fármaco expuesta al medio de disolución

C_s = concentración de saturación (solubilidad)

C = concentración del fármaco en el medio al tiempo t

Existe una condición (sink) donde una concentración en el medio es mucho menor a la concentración del fármaco a saturación. Entonces la ecuación 3 queda:

$$\frac{dM}{dt} = -k \cdot A \cdot C_s \quad (4)$$

Estas ecuaciones son de mucha utilidad en los estudios de la calidad de un fármaco^[3]. Estos estudios se realizan en condiciones estandarizadas de la interface líquido/sólido, la temperatura y la composición del solvente. Cuando se fabrica una tableta, esta se puede desintegrar en trozos grandes o pequeños. El área de contacto es mucho mayor cuando existen muchas partículas pequeñas que cuando son más grandes. Y por lo tanto, las partículas pequeñas se disuelven más rápidamente. La velocidad de disolución aumenta por un aumento en la constante de velocidad, un aumento en el área superficial del fármaco y un aumento en la solubilidad del fármaco^[3].

La prueba de disolución sirve como una prueba de control de calidad del fármaco, ayuda al desarrollo del producto, para probar su estabilidad y permite a las instancias regulatorias aprobar cambios menores en la formulación, por ejemplo de genéricos^[4, 5, 6].

En este trabajo, se presenta el desarrollo de un simulador que permite a los alumnos de farmacia y carreras afines contar con una herramienta didáctica donde puedan realizar cambios en las variables y observar las implicaciones en la disolución del fármaco.

MATERIAL Y MÉTODO

Se diseñó y desarrolló un simulador para el estudio de la disolución de un fármaco. El programa fue escrito en lenguaje Visual Basic® ver. 6.0 para ambiente Windows® para ser ejecutado desde Windows XP a Windows 10.

Orden Cero

Para el caso de orden cero, es necesario que se tenga muy poco soluto y gran volumen de solvente, de manera que la concentración del fármaco (soluto) no influya sobre la cinética. Para el simulador correspondiente se utilizó la ecuación 5:

$$\frac{dC}{dt} = k_0 \quad (5)$$

Integrando:

$$C(t) = k_0 t \quad (6)$$

Orden Uno

Para el caso de orden uno, la concentración del fármaco inicial es pequeña; pero se va agregando mayor concentración en el solvente, de manera que la disolución está en función de la concentración del fármaco. Se utilizó la ecuación 6:

$$\frac{dC}{dt} = -k_0 \cdot C \quad (6)$$

Donde:

dC/dt es la velocidad del proceso

K_0 es la constante de disolución

C es la concentración

Orden Mixto

Para el caso de orden "mixto", se utilizó la ecuación 7 (basado en el trabajo de Noyes y Whitney) ^[2, 7, 8, 9]:

$$\frac{dC}{dt} = \frac{D \cdot A}{\delta} \left[C_s - \frac{C(t)}{V} \right] \quad C(0) = 0 \quad (7)$$

Donde:

δ es el grosor de la capa de difusión efectiva

Las demás variables tienen el mismo significado que lo reportado arriba.

Las ecuaciones diferenciales fueron resueltas con el método numérico de Euler.

RESULTADOS

Se diseñó un programa computacional interactivo para la enseñanza-aprendizaje del tema de disolución de fármacos. Es ejecutable en ambiente Windows®. El programa está formado por tres simuladores que permiten reproducir las diferentes cinéticas de disolución. Al abrir se presenta una ventana de inicio que cuenta con el menú principal, formado por tres botones: <<ORDEN CERO>>, <<ORDEN UNO>> Y <<ORDEN MIXTO>> (Figura 1).

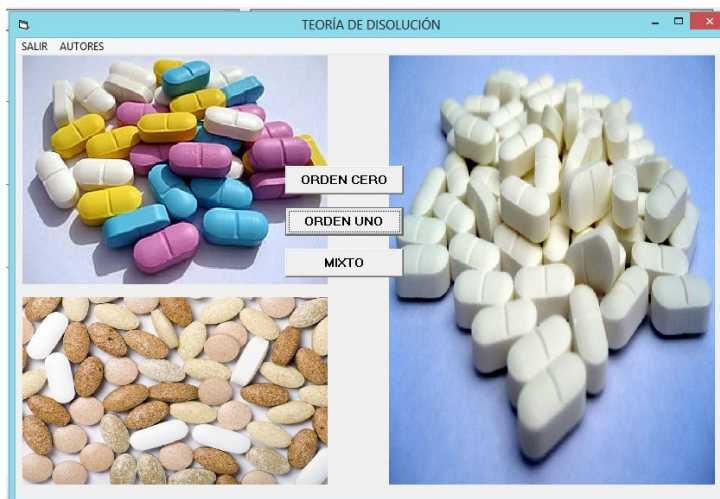


Fig. 1. Menú principal del programa

Orden Cero

Para el proceso de orden cero, el simulador cuenta con una interfaz (Figura 2). Del lado derecho, se muestra un recuadro para ingresar la constante de velocidad de disociación. Debajo se encuentra el botón <<SIMULAR>> que al oprimir permite realizar la simulación. Del lado izquierdo, se encuentra un recuadro para graficar el porcentaje disuelto del fármaco contra el tiempo en minutos.

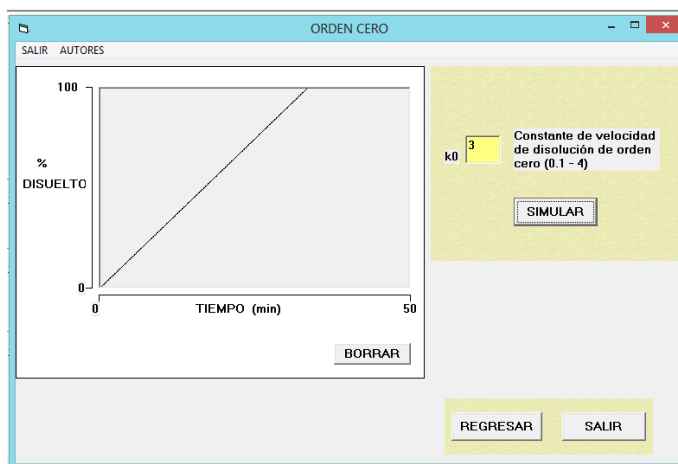


Fig. 2. Simulación de un proceso de cinética cero. En este caso la concentración del fármaco es tan pequeña que no influye en el proceso. El valor de $K_0 = 3$, en estas condiciones el 100 % de la disolución se alcanzó en 35 min.

Orden Uno

Cuando se oprime el botón <<ORDEN UNO>> del menú principal se abre la interfaz para simular procesos de este orden (Figura 3). En este tipo de cinética, la concentración del fármaco es importante. Para la simulación es necesario ingresar varios factores: el volumen, la superficie de interacción, la capa estacionaria, el coeficiente de difusión, la concentración máxima que se puede disolver, y la concentración del soluto (fármaco). El valor de todas estas variables se deben de ingresar en la sección de "Ingreso de datos" que se encuentra del lado derecho de la interfaz. Una vez ingresado los datos, se oprime el botón <<SIMULAR>> y se ejecuta la simulación. La gráfica de el porcentaje de fármaco disuelto contra el tiempo, se muestra en un recuadro que se muestra en el lado izquierdo de la interfaz.

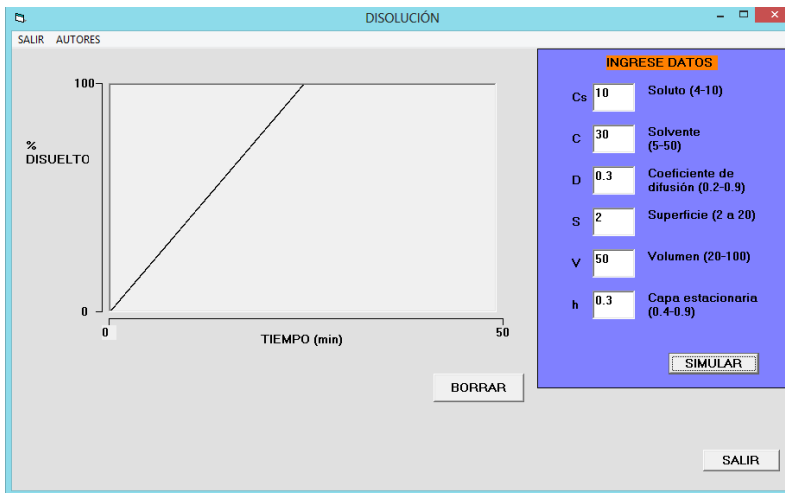


Fig. 3. Interfaz para una cinética de orden uno. Simulación generada con los valores mostrados en los cuadros correspondientes de las variables. La gráfica muestra un proceso lineal. El 100% del fármaco fue disuelto en 25 min.

Orden Mixto

Este orden mixto sigue una cinética tipo Michaelis-Menten. La simulación depende del coeficiente de disolución que incluye el coeficiente de difusión, el área, el volumen y el grosor de la capa de difusión efectiva. Una vez que se accede a la interfaz correspondiente, el alumno debe ingresar el dato de la velocidad de disolución. El valor se puede ingresar considerando el rango propuesto en el simulador (0.1 a 1.5), o bien se puede calcular a partir de la ecuación 8.

$$K_d = \frac{D \cdot A}{\delta \cdot V} \quad (8)$$

Donde:

A es el área

D es el coeficiente de difusión

δ es el grosor de la capa de difusión efectiva

V es el volumen

Para que se alcance el 100 % de disolución del fármaco W_0 debe dar 100. Una vez ingresados los datos con el botón <<SIMULAR>> se genera una gráfica que se muestra en un recuadro que se encuentra del lado izquierdo de la interfaz (Figura 4). Del lado derecho de la interfaz y abajo se presentan seis botones que corresponden a tabletas de acetaminofen de diferentes marcas. Cada vez que se oprime uno de ellos se muestra la curva correspondiente de la marca del fármaco (Figura 5).

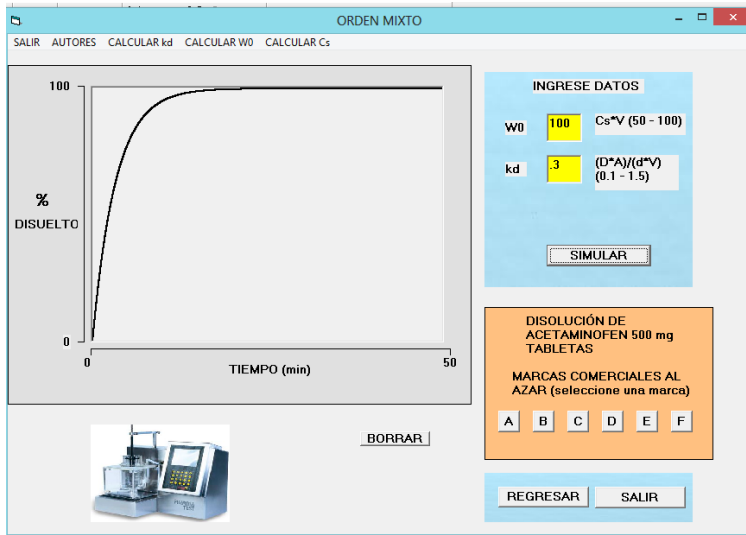


Fig. 4. Interfaz del simulador de Orden Mixto. En la gráfica se muestra el resultado de la simulación generada con un valor de $W_0 = 100$ y una $K_d = 3$. Se puede observar, cómo primero el fármaco se disuelve rápidamente, en seguida la velocidad va decreciendo hasta llegar al 100 % de fármaco disuelto.

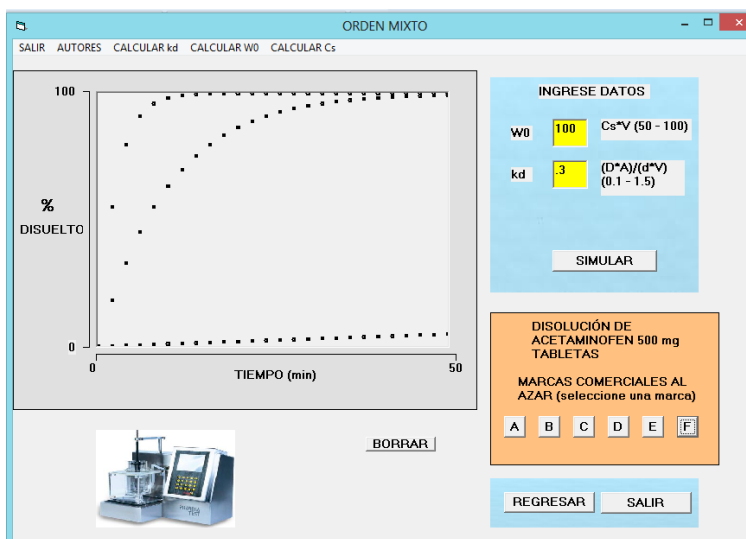


Fig. 5. Ejemplos de simulaciones de disolución de acetaminofen. Se simularon las marcas A, D y F. Las gráficas generadas se muestran en el recuadro de la izquierda de la interfaz. La gráfica de más a la izquierda muestra cómo el fármaco sufrió una disolución muy rápida hasta alcanzar el 100% a los 12 minutos. El fármaco de la marca D, generó una cinética un poco más lenta que la anterior, alcanzó el 100% a los 35 min. El fármaco de la marca F, nunca alcanza la disolución total, en consecuencia no cumple con las normas.

CONCLUSIONES

En este trabajo se presentó un programa ejecutable que permite simular los resultados de experimentos *in vitro* de disolución de un fármaco. Este tipo de experimentos tienen como objetivo fundamental simular el proceso de disolución de un fármaco semejante al que se presenta en el aparato digestivo. El fármaco es colocado en una solución especial a un pH específico, por ejemplo 4.5. El vaso de disolución se mantiene a una temperatura constante (37 °C). El fármaco se agita simulando la peristalsis intestinal. Se toman muestras a diferentes tiempos

y se analizan. Estos datos posteriormente se grafican como el porcentaje disuelto con respecto del tiempo. El simulador que se presenta en esta primera versión permite generar justamente estas gráficas. Los datos que son requeridos para cada simulador dependen de la cinética. El alumno tiene la posibilidad de realizar un número ilimitado de simulaciones. Con este programa se puede introducir al tema y destacar su importancia. Las pruebas de disolución de un fármaco son parte del control de calidad de su producción. Todo estudiante de farmacia las debe conocer.

BIBLIOGRAFÍA

1. P. Macheras & A Iliadis. "Drug Dissolution," in *Modeling in biopharmaceutics, pharmaceutics, and pharmacodynamics* (Springer Inc., New York, 2000), Chapter 5, pp. 89-112.
2. A. A. Noyes & W. R. Whitney. "The rate of solution of solid substances in their own solutions", J. Am. Chem. Soc., Vol. 19, 1897, pp. 930-934.
3. G. Singhvi & M. Singh. "Review: In-vitro drug release characterization models", Int. J. Pharm. Stu. Res., Vol. 2, 1, 2011, pp. 77-84.
4. K. A. Khan. "The concept of dissolution efficiency", J. Pharm. Pharmacol., Vol. 27, 1975, pp. 48-49.
5. S. K. El-Arini & H. Leuenberger. "Dissolution properties of praziquantel-PVP systems", Vol. 73, 1998, pp.89-94.
6. H. L. Ju. "On the assessment of similarity of drug dissolution profiles. A simulation study". Drug Inf. J., Vol. 31, 1997, pp.1273-1289.
7. J. Siepmann & F. Siepmann. "Mathematical modeling of drug dissolution", Int. J. Pharm., Vol. 453, 2013, pp. 12-24.
8. P. Costa, J. M. Sousa-Lobo. "Modeling and comparison of dissolution profiles", Euro. J. Pharm Sci., Vol. 13, 2001, pp. 123-133.
9. F. L. Underwood, D. E. Cadwallader. "Effects of various hydrodynamic conditions on dissolution rate determinations", J. Pharma. Scien. Vol. 5, 5, 1978, pp. 697-700.

SÍNTESIS Y ESTUDIO DE HIDROXIAPATITA Y FLUORAPATITA, OBTENIDAS POR EL MÉTODO DE PRECIPITACIÓN Y CARACTERIZADAS POR MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS

José Genaro Carmona Gutiérrez, Valeria Jazmín Santiago Elias, Jose Albino Moreno Rodríguez, José Rutilio Márquez López¹, Alfonso Daniel Diaz Fonseca y Marco Antonio González Coronel

Facultad de ciencias químicas. Benemérita universidad autónoma de Puebla

RESUMEN

La hidroxiapatita y la fluorapatita son las apatitas más importantes desde el punto de vista del papel que juegan en el organismo tanto en los huesos como en los dientes, para la síntesis de estas cerámicas derivadas de la apatita, se pesan las cantidades de los reactivos en una relación estequiométrica de Ca/P apropiada, añadimos agua desionizada, con agitación a 1000 rpm a la temperatura ambiente durante 24 horas y se forma una suspensión de hidróxido de calcio, en seguida se adiciona ácido fosfórico muy lentamente y con agitación constante y para controlar el pH se va adicionando hidróxido de amonio, para la síntesis de fluorapatita se utiliza el fluoruro de calcio, unos cristales blancos tanto de un compuesto como del otro se producen, como se sabe estos compuestos son solubles en un medio ácido, de acuerdo a la literatura como lo plantea K. P. Sanosh, et al. Ambos compuestos son insolubles en solventes fisiológicos y han sido caracterizados usando difracción de rayos X e infrarrojo, los resultados obtenidos nos permiten observar que tiene estructura cristalina con forma hexagonal, los modos de vibración observados nos muestran sus grupos funcionales.

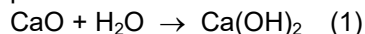
INTRODUCCIÓN

La hidroxiapatita, HA, producida por precipitación es un método sencillo y su rendimiento es bueno, se logra un buen control de agitación y la síntesis debe realizarse en un sistema donde haya menor contacto con la atmosfera, ya que se demuestra que tiene mucha influencia el dióxido de carbono, el producto es un polvo blanco y se sintetiza a temperatura ambiente, 25°C, los resultados espectroscópicos garantizan que el material sintetizado es la HA, paralelamente se ha estudiado su solubilidad en diferentes solventes fisiológicos, es un material muy poco soluble, la información actual es que la HA es una cerámica biocompatible y bioactiva que constituye el mineral de los huesos y esmalte de los dientes, ha atraído la atención como un material para huesos artificiales, la HA es un composite biocerámico porque actúa como una fase de refuerzo donde la matriz es el colágeno o puede ser el polietileno, así lo describe Hench [1], su estructura química nos muestra su importancia en los organismos vivos, las sales de calcio son cristalinas, se depositan en la matriz orgánica del hueso, están compuestas principalmente de calcio y fosfato, la fórmula de esta sal cristalina conocida como HA es la siguiente: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, sus cristales reposan sobre cada segmento de la fibra de colágeno y están estrechamente ligados a ella, los segmentos de estas fibras se superponen entre sí, lo que hace que los cristales de HA se dispongan como ladrillos en una pared. La HA se sintetiza por el método de precipitación, este es un método que permite controlar variables importantes como la relación estequiométrica Ca/P, la temperatura de síntesis, el método de agitación, el pH de la mezcla de reacción, la velocidad de agregado de los reactivos, el tiempo de envejecimiento del precipitado, etc., la síntesis se hace a partir de óxido de calcio, ácido fosfórico y agua desionizada, con agitación permanente y con hidróxido de amonio para controlar el pH por encima de 9; pero además hay otros métodos de síntesis, método sol-gel, como es el caso de G. Bezzi, et al [2, 3], reacciones en estado sólido como es el planteamiento de Sumit Pramanik and et al [4], por irradiación ultrasónica se puede estimular la reactividad de las especies químicas donde se produce la formación, crecimiento y colapso de burbujas según lo plantea Aharon Gedanken [5], métodos como hidrotérmico, hidrólisis y mecanoquímicos, etc. Una vez que fue sintetizado el material, se procede a su caracterización, la difracción de rayos X nos muestra un material cristalino que aún no ha requerido un tratamiento térmico, se caracteriza por espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier. Para la síntesis de la fluoapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ se emplea el mismo procedimiento, simplemente agregando una sal de fluor, fluoruro de calcio, CaF_2 .

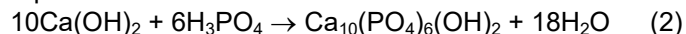
PARTE EXPERIMENTAL

En la síntesis se pesan las cantidades de los reactivos en una relación estequiométrica de Ca/P de 1.667, para obtener teóricamente 25 gramos de producto se pesan 13.955 g de óxido de calcio (CaO), se añade al matraz de

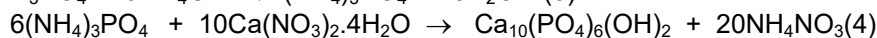
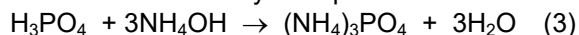
tres bocas de 1000 mL y se agregan 250 mL de agua desionizada, se agita a 1000 rpm a una temperatura promedio de 20°C durante 24 horas, se forma una suspensión de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, sin contacto directo con la atmósfera para evitar la contaminación con CO_2 , la reacción química que se produce es la siguiente:



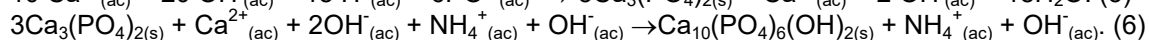
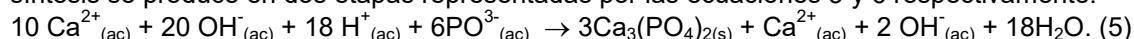
En seguida se añaden 10.186 mL de H_3PO_4 muy lentamente y con agitación constante, se mantiene durante 24 horas, se mide el pH durante la reacción y se controla a 10, agregando 11 mL de hidróxido de amonio, se obtienen cristales blancos de HA que se filtran, se lavan 3 veces con agua desionizada, se dejan secar en la mufla a 50°C durante 24 horas, el rendimiento fue de 62 %. La reacción química que se lleva a cabo la representamos con la ecuación 2.



La presencia de hidróxido de amonio en el proceso es para garantizar la formación de HA, como se sabe este compuesto es soluble en un medio ácido, de acuerdo a la literatura como lo plantea K. P. Sanosh, et al [6], la reacción de la formación de HA por el método sol-gel puede ser expresada en dos etapas, durante la primera se forma el fosfato de amonio y agua y en la segunda etapa se forma la HA y nitrato de amonio, como se muestra en las ecuaciones 3 y 4 respectivamente.



Según J. L. Gómez, N. Elizondo y H. M. Guerrero [7], el sistema del fosfato de calcio está formado por la HA y fosfato de calcio, donde la HA es un compuesto cristalino integrado por tres moléculas de fosfato de calcio y una molécula de hidróxido de calcio, esta información nos permite sugerir que por el método de precipitación la síntesis se produce en dos etapas representadas por las ecuaciones 5 y 6 respectivamente.



El precipitado así obtenido se caracteriza por diferentes técnicas, difracción de rayos X, infrarrojo, microscopía electrónica de barrido. Para la síntesis de fluorapatita se sigue el mismo procedimiento, pero adicionando fluoruro de calcio, se realizaron 6 síntesis a partir de diferentes valores de pH: 6, 7, 8, 9, 10 y 11. El equipo que sirvió de base para la síntesis corresponde a la figura 1.

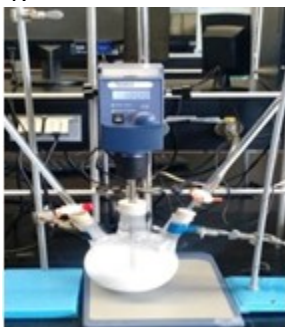


Figura 1. – Agitador.

RESULTADOS

Difracción de rayos X

En las figuras 2 y 3, se muestran los difractogramas correspondientes a la síntesis de los materiales que fueron obtenidos manteniendo el pH igual a 6 y 7, respectivamente, se observan diferentes fases cristalógicas: Hidrógeno calcio fosfato hidrato, conocido como Brushita, $\text{HCa}(\text{PO}_4)(\text{H}_2\text{O})_2$, de red cristalina monoclinica y de grupo espacial $\text{Ia}(9)$, según base de datos Unit Cell Data Source: Single Crystal; Fluoruro de calcio o Fluorita, CaF_2 , es el reactivo utilizado, de red cristalina cúbica, correspondiente al grupo espacial Fm-3m (225), según base de datos Unit Cell Data Source: Powder Diffraction; hidrógeno fosfato de calcio o monetita, CaHPO_4 , según Structures: Reference reports triclinic; En la figura 3 se observa además una nueva fase: Hidruro fluoruro de calcio, $\text{CaF}_{0.76}\text{H}_{1.24}$, de red cristalina cúbica y de grupo espacial Fm-3m (225); se puede afirmar que en estas condiciones de pH aún no hay formación de las fases cristalinas esperadas.

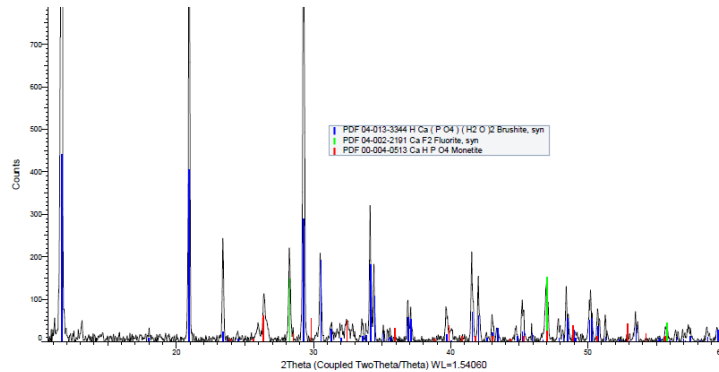


Figura 2

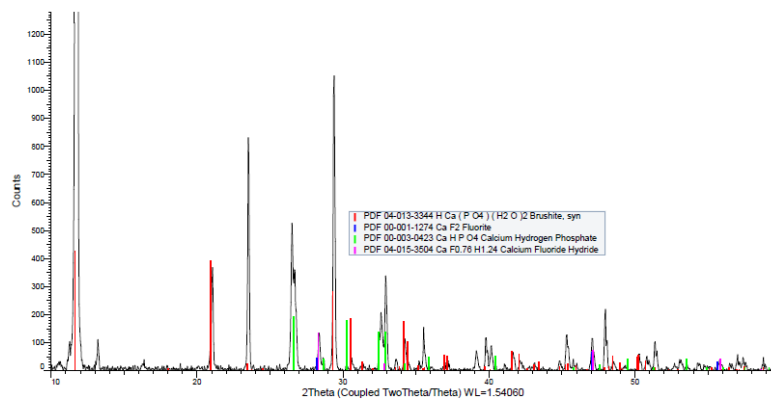


Figura 3

En la figura 4 se muestra el difractograma correspondiente al material que fue sintetizado a un pH igual a 8, se puede observar la presencia de las fases cristalinas brushita, fluorite, hidrógeno fosfato de calcio, pero se puede afirmar que por encima de un pH de 8 ya se tiene la presencia de la fase cristalina correspondiente a la hidroxiapatita o hidroxifosfato de calcio, $Ca_5(PO_4)_3OH$, de red cristalina hexagonal y de grupo espacial P63/m (176).

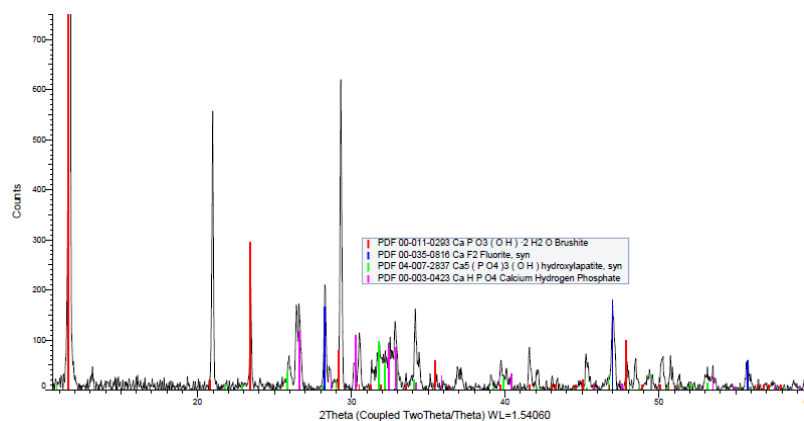


Figura 4

En la figura 5 tenemos el difractograma correspondiente al material sintetizado a un pH de 9, aparece la fase cristalina correspondiente a la fluorite y una fase cristalina de hidrógeno fosfato de aluminio y amonio, $NH_4AlHPO_3 \cdot 10H_2O$, de red cristalina monoclinico y grupo espacial P2/a (13); además de la fase cristalina correspondiente a la hidroxiapatita, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, aparece también la fase cristalina correspondiente a

flúorapatita o fluoruro fosfato de calcio, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$, de red cristalina hexagonal y grupo espacial P63/m (176). En la figura 6 están los difractogramas de los materiales que fueron sintetizados a un pH de 10 y 11, se observa la presencia de fluorite, también hidrógeno fosfato de amonio, $\text{NH}_4\text{H}(\text{PO}_3)_2$, de red cristalina triclinico y grupo espacial $\text{P}^*, -1 (0)$, pero prevalece los difractogramas correspondientes a hidroxiapatita y flúorapatita.

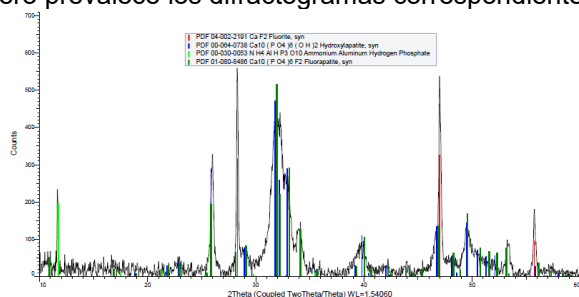


Figura 5

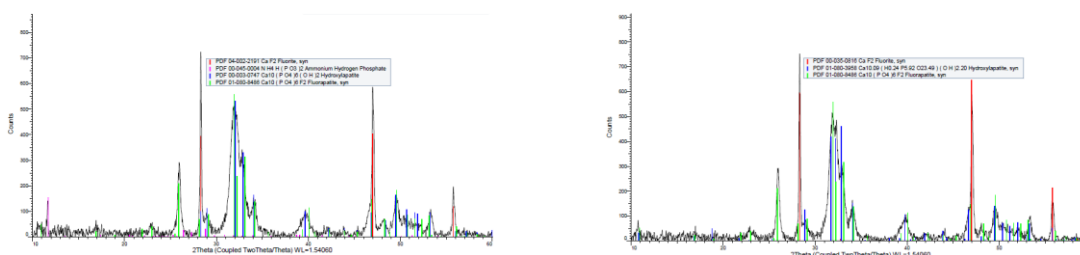


Figura 6

Espectroscopia de Infrarrojo con transformada de Fourier

El equipo utilizado es de marca BRUKER, modelo Vertex 70, número de serie 1 002 9244. Las medidas se tomaron en un rango espectral desde 4000 a 500 cm^{-1} . En la figura 7 se presenta el espectro de infrarrojo de las muestras sintetizadas a temperatura ambiente (25°C) las bandas de vibración observadas fueron comparadas con lo que ha sido reportado en la literatura científica, concretamente lo publicado por L. G. Sequeda, J. M. Díaz, S. J. Gutiérrez, S. J. Perdomo y O. L. Gómez, [12], las señales de PO_4^{3-} entre 1041.46 a 1020.73 cm^{-1} y entre 575.42 a 554.68 cm^{-1} , son vibraciones de tipo estiramiento y cambio en el ángulo de enlace; entre 1204 a 1440 cm^{-1} , 862.07 a 877.40 cm^{-1} y 780.04 a 785.45 cm^{-1} aparece una banda tipo flexión característica del grupo funcional CO_3^{2-} , hay tres señales, una entre 3468.14 a 3472.65 cm^{-1} , otra en 1645.43 cm^{-1} y una más en 1145.43 cm^{-1} , tipo estiramiento propia de la molécula del agua, entre 3268.14 y 3150.34 cm^{-1} corresponden a las señales de OH; una banda característica del OH correspondiente a la hidroxiapatita se encuentra entre 3539.36 hasta 3575.42 cm^{-1} ; finalmente encontramos una banda alrededor de 600 cm^{-1} , que corresponde a la interacción del flúor con un metal, que en este caso corresponde al calcio, en la siguiente tabla se hace un resumen de las principales señales:

pH	PO_3^{3-}		CO_3^{2-}			H_2O			OH		OH	Ca-F
6	1041.4	575.4	1204.6	862.0	785.4	3468.1			3268.1	3150.8	3539.3	599.8
	6	2	2	7	5	4			4	4	6	8
7	1045.9	570.0	1200.1	867.4	780.0	3478.0	1645.4		3278.8	3150.8	3539.3	
	7	1	2	8	4	6	3		4	4	6	
8	1026.1	564.6	1210.0	867.4	785.4	3472.6		1145.4	3268.0	3150.3	3534.8	600.2
	4	0	3	8	5	5		3	2	4	5	0
9	1020.7	554.6	1440.8	877.4			1645.4	1145.4			3570.0	600.3
	3	8	0	0			3	3			0	5
10	1020.7	549.2		871.9			1643.0		3222.0		3570.0	600.6
	3	7		9			2		5		1	6
11	1020.7	554.6		877.4			1645.4				3575.4	606.0
	3	8		0			3				2	6

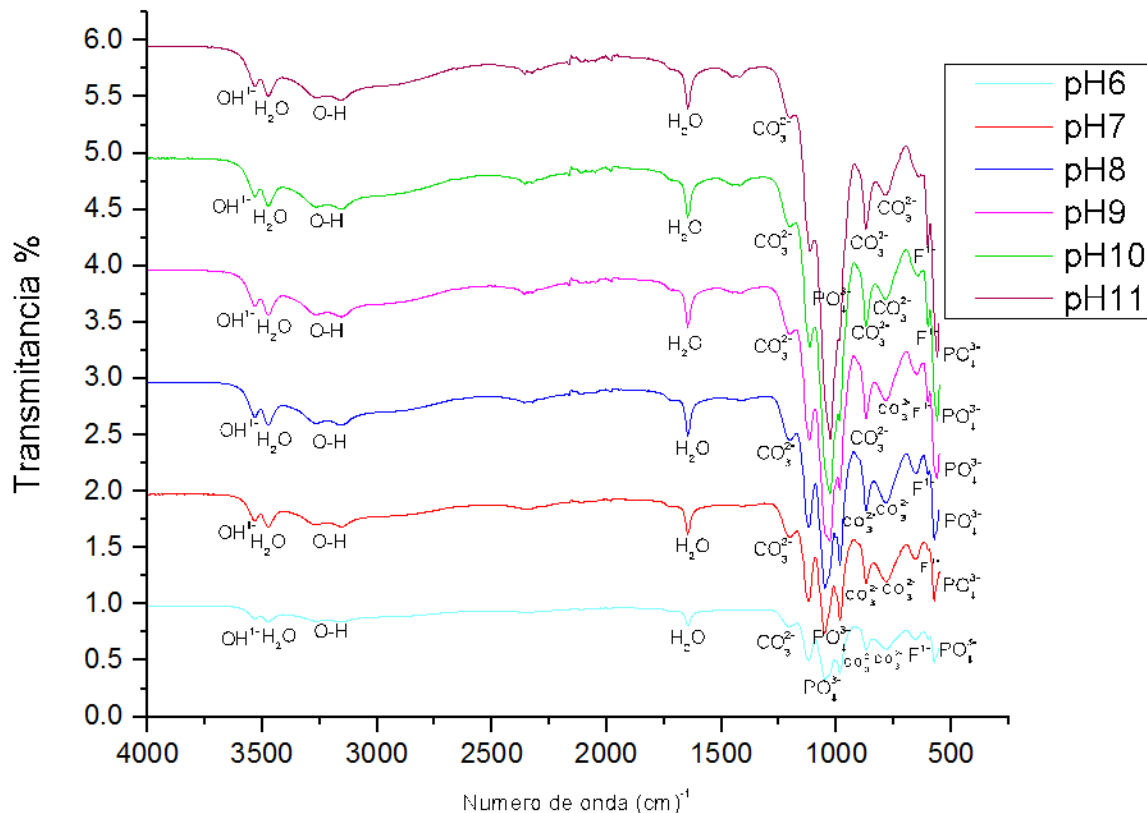


Figura 7. – Espectros de IR de hidroxiapatita y fluorapatita.

Microscopía electrónica de barrido

Las imágenes de los materiales sintetizados fueron tomadas con un instrumento JEOL/EO JSM-6610, con el detector de electrones secundarios para obtener imágenes de alta resolución, si la ampliación es de 100000X se observan partículas en forma de polvo blancas con un tamaño similar, independientemente la síntesis y su pH, las partículas tienen un tamaño promedio de las más pequeñas que va desde 35 a 49 nm, según se puede observar en las imágenes de la figura 8.

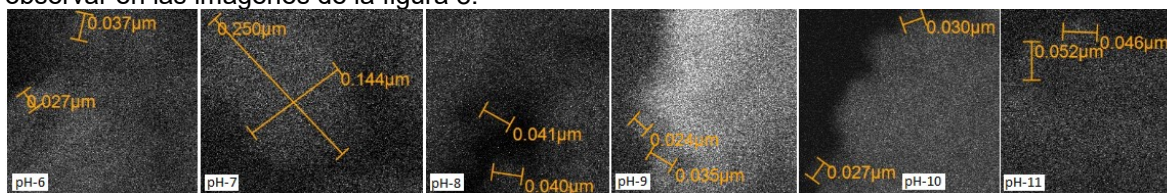


Figura 8

Microscopía de energía dispersiva

En la figura 9 se muestran las imágenes de la muestra obtenida a pH 11, analizada por la energía dispersiva que permite hacer un microanálisis, hay tres espectros de diferentes regiones de la muestra, en los tres espectros se observa la presencia de oxígeno, fósforo, calcio, flúor, magnesio y aluminio; el porcentaje en peso promedio de los elementos químicos presentes es el siguiente: 49.30 % de oxígeno, 31.34 % de calcio, 15.26 % de fósforo, 3.93 % de flúor, 0.11 % de magnesio y 0.05 % de aluminio, lo que nos conduce a una fórmula de $Ca_{3.7}P_{2.3}O_{14.7}F$, sin embargo la relación estequiométrica entre el calcio y el fósforo es muy buena porque corresponde a 1.61 y teóricamente debe ser 1.67; en la muestra de pH-10 el resultado obtenido para el flúor es de 4.44 % y para las muestras sintetizadas a pH menores su porcentaje en peso es muy bajo, 1.23 % para la muestra pH-6; 1.36 % para la muestra pH-7; 1.20 % para las muestras pH-8 y pH-9.

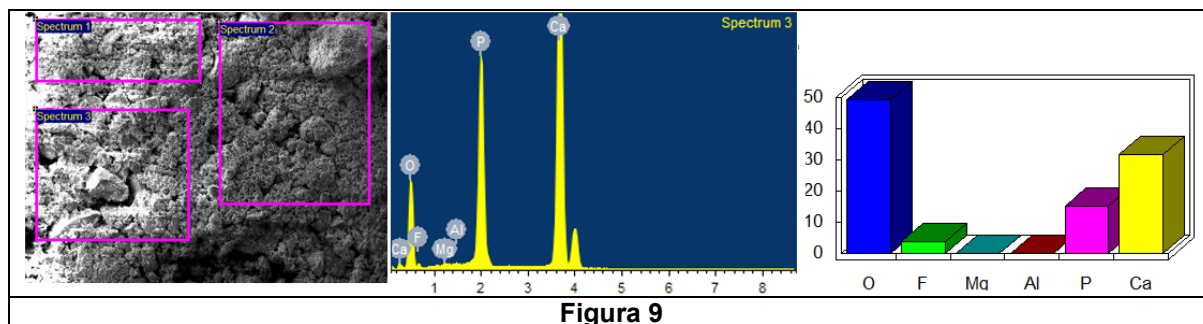


Figura 9

CONCLUSIONES

- El método de precipitación utilizado para la obtención de la hidroxiapatita es el mismo que permite obtener la fase cristalina correspondiente para la flúorapatita. Se debe estudiar la relación estequiométrica que permita llegar a la obtención de flúorapatita pura.
- Según los datos obtenidos por difracción de rayos X, en cada síntesis tenemos una mezcla de diferentes fases, pero se puede concluir que cuando el pH está por encima de 8 se forma la fase correspondiente a hidroxiapatita.
- Si el pH está por encima de 9, se forma la flúorapatita.
- Por los espectros de infrarrojo se puede concluir que los grupos funcionales corresponden a la hidroxiapatita, también se observa la vibración del enlace flúor-calcio, que corresponden a la flúorapatita.
- Por microscopía electrónica de barrido se observa las partículas en forma de agujas y capas, pero cuando se hace un mayor acercamiento se muestra partículas de polvo del tamaño de nanómetros.
- Por espectroscopia de energía dispersiva, se puede reafirmar que la flúorapatita se sintetiza a pH por encima de 10.

BIBLIOGRAFÍA

1. L. Hench, (1998), J. Am. Ceram. Soc., 81[7], 1705-28.
2. Bezzi, G. Celotti, E. Landi, T. M. G. La Torreta, I. Sopyan. A. Tampieri, (1998), Sol-gel processing of hydroxyapatite, Journal of material science, Volume 333, pages 4111-4119.
3. G. Bezzi, G. Celotti, E. Landi, T. M. G. La Torreta, I. Sopyan. A. Tampieri, (2003), a novel sol-gel technique for hydroxyapatite preparation, Materials Chemistry and Physics, Volume 78, Pages 816-824.
4. Sumit Pramanik, Avinash Kumar Agarwal, K. N. Rai and Ashish Garg, (2007), Development of high strength hydroxyapatite by solid-state-sintering process, Ceramics International, Volume 33, Issue 3, April, pages 419-426.
5. Aharon Gedanken, (2004), Using sonochemistry for the fabrication of materials, Ultrasonic Sonochemistry, Volume 11, Issue 2, April, Pages 47-55.
6. K. P. Sanosh, Min-Cheol Chu, A. Balakrishnan, T. N. Kim and Seong-Jai Cho, (2009), Preparation and Characterization of nano-hydroxyapatite power using sol-gel technique, Bull. Mater. Sci., Vol. 32, No. 5, pp. 465-470.
7. José Luis Gómez Ortega, Nora Elizondo Villarreal, Hector Martín Guerrero Villa, (2004), Visualización cristalográfica de la hidroxiapatita, Ingenierías, Vol. VII, No. 24, pags. 46-50.
8. Nathalia Marín Pareja, Diana Marcela Escobar, Claudia Patricia Ossa, Alejandro Echavarría, (2008), Synthesis and characterization of microporous hydroxyapatite, comparison with a commercial product, Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquía No. 43.
9. Raúl Horacio López, (2004), Caracterización de Medios Porosos y Procesos Percolativos y de Transporte. Universidad Nacional de San Luis, Argentina.
10. Marco Navatta, Eduardo Méndez, (2013), caracterización de hidroxiapatitas nanoestructuradas mediante espectroscopía infrarroja (FTIR) y difracción de rayos X, Laboratorio de biomateriales, instituto de química biológica, facultad de ciencias U. de la R.
11. P. Fernigrini, O. R. Cámara y F. Y. Oliva. Síntesis y caracterización de distintas apatitas. Su utilización como biomaterial. Asociación Argentina de Materiales.

12. Luis Gonzalo Sequeda, José Milciades Díaz, Sandra Janeth Gutiérrez, Sandra Janeth Perdomo, Olga Lucía Gómez, (2012), Obtención de hidroxiapatita sintética por tres métodos diferentes y su caracterización para ser utilizada como sustituto óseo, Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm., Vol. 41 (1).

TÉCNICAS PARA EL ESTUDIO DE BACTERIAS DEL AIRE EN MÉXICO

Guadalupe Cruz-Pauseno, María Teresa Núñez-Cardona, Raúl V. Díaz-Godoy y Jaime García Mena

Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco.
Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares.
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Zacatenco.

RESUMEN

En México, a través de 22 Sistemas de Monitoreo de la Calidad del Aire (SMCA), distribuidos en 19 Estados de la República, hay 48 estaciones de monitoreo en áreas urbanas, de las cuales sólo 19 proporcionaron datos durante el periodo de 2000-2013, especialmente sobre partículas como: PM_{10} , $PM_{2.5}$, O y SO_2 . Estos datos permiten diseñar estrategias para el control y reducción de contaminantes atmosféricos, aunque se cuenta con poca información referente a los bioaerosoles, generalmente de origen antropogénico, que conjuntamente con las partículas afectan de manera negativa a la calidad del aire y la salud de los organismos. El objetivo de este trabajo fue conocer las técnicas que se han aplicado, en México, para el estudio de las bacterias del aire. De acuerdo con lo reportado, para coleccionar las muestras se han utilizado técnicas como la de impactación directa, captadores Burkard y volumétricos tipo Hirs; muestreador Andersen, Sistema M. Air T. y el BioSampler SKC. A través del aislamiento y análisis genómico se han identificado, en la zona metropolitana del Valle de México, a los géneros *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Paenisporsarcina*, *Massilia*, *Paenibacillus*, *Proteus*, *Brevibacillus* y *Desemzia*; en la Ciudad de México a *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Erwinia*, *Gluconacetobacter*, *Proteus*, *Exiguobacterium* y *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia* además de *Escherichia coli*; por otro lado en diferentes sitios de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca, han determinado la presencia de bacterias Gram positivas como *Curtobacterium*, *Curtobacterium flaccumfaciens*, *Staphylococcus* (*S. equorum*, *S. succinus*, *S. epidermidis*), *Exiguobacterium*, (*E. sibiricum*) además de *Pantoea agglomerans*; en un relleno sanitario de Aguascalientes detectaron *Pasteurella haemolytica*, *Serratia plymuthica* y *Aeromonas hydrophila*, las cuales podrían comprometer la salud de los trabajadores de este lugar. Es necesario intensificar, en México, el estudio de los bioaerosoles.

Palabras clave: estaciones de monitoreo, bacterias, técnicas de colecta.

*Agradecimiento: CONACyT

INTRODUCCIÓN

Después de la Revolución Industrial, los gases que constituyen el aire han cambiado drásticamente, actualmente su composición ha sido modificada por fuentes naturales y partículas de origen antropogénico. En países como México la cantidad de partículas suspendidas en el aire son evaluadas a través de la *Red de monitoreo* conceptualizado como el conjunto de estaciones de muestreo, normalmente fijas y continuas, instauradas para medir la calidad del aire y algunos parámetros ambientales que cubren una área determinada. Así mismo, la *Estación de monitoreo*, es un dispositivo que mide de forma continua, la concentración de contaminantes en el aire, en un área determinada.

Las partículas de origen antropogénico como las partículas en suspensión con un diámetro aerodinámico de hasta 10 μm (PM_{10}), partículas en suspensión con un diámetro aerodinámico de hasta 2.5 μm ($PM_{2.5}$), monóxido de carbono (CO), dióxido de azufre (SO_2), dióxido de nitrógeno (NO_2), ozono (O_3); son evaluadas mediante Sistemas de Monitoreo de la Calidad del Aire (SMCA). En México de acuerdo con el Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático en conjunto con la Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales (INECC y SEMARNAT, 2015), a través de 22 SMCA, distribuidos en 19 Estados de la República (Baja California, Chihuahua, Ciudad de México, Coahuila, Colima, Durango, México, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán), hay 176 estaciones de monitoreo en áreas urbanas, de las cuales 98 son automáticas, 53 son manuales y 25 son mixtas (tienen medición automática y manual).

Los estilos modernos de vida contribuyen en gran medida al aumento de partículas PM₁₀, PM_{2.5}, CO, SO₂, NO₂, O₃ y bioaerosoles, éstos considerados microorganismos vivos (bacterias, hongos, virus), y partes o fracciones de otros organismos (polen, esporas) con distintos tamaños suspendidos en el aire (material orgánico), que pueden causar: enfermedades infecciosas, alergias y toxicidad.

En países en vías de desarrollo, es de gran relevancia conocer cuáles son las técnicas más viables, económicamente accesibles, eficientes y fáciles de aplicar para la evaluación de bioaerosoles presentes en el aire. Estas técnicas proporcionan datos sobre la presencia de microorganismos, sobre todo en bacterias, permitiendo conocerlas y detectar si podrían ser un riesgo para la salud en la población. La característica principal de este trabajo, radica en conocer las técnicas aplicadas en México para la colecta de bacterias presentes en el aire, y, tener un panorama general de cuáles son las más eficientes para la identificación de bacterias.



PARTE EXPERIMENTAL





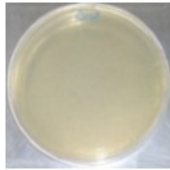
Se realizó una búsqueda bibliográfica especializada sobre las técnicas empleadas en México, para el estudio de las bacterias del aire.

RESULTADOS

Los estudios de bacterias del aire en México, son insuficientes, por lo que se requiere ampliar la comprensión en la interacción del aire como dispersor, el humano como hospedero y a las bacterias como agentes patógenos. Desde el siglo pasado han sido escasas las técnicas aplicadas para la realización del estudio de bacterias del aire, sin embargo con ayuda de la tecnología, los estudios en genómica ambiental y secuenciación masiva resultan ser un potencial en la comprensión de las interacciones que ejercen las bacterias en el humano. Las técnicas utilizadas hasta ahora en el estudio de las bacterias, pueden observarse en la tabla 1, así como las bacterias que podrían incidir de forma negativa en la salud de la población.

Tabla 1. Estudios realizados en distintos estados de la República Mexicana a través de distintas técnicas.

Técnicas	Bacterias	Sitios de estudio	Referencia
	Muestreador Burkard	<i>Pasteurella haemolytica</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pantoea</i> y <i>Yersinia enterocolitica</i>	Relleno Sanitario. Aguascalientes Flores-Tena et al. (2007)
	Muestreador SAS Súper 100	<i>E. coli</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Klebsiella</i> , otras no identificadas	Rastro municipal. Guadalajara Gutiérrez et al. (2005)

Técnicas	Bacterias	Sitios de estudio	Referencia	
	<i>Baci-llus</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Knoellia</i> , <i>Kocuria</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Rothia</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Alcaligenes</i> , <i>Agrobacterium</i> , <i>Kluyvera</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Stenotrophomonas</i> , <i>Pandoraea</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Proteus</i> , <i>Rhanella</i>	Dos centros hospitalarios. León, Guanajuato	Maldonado-Vega et al. (2014)	
	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Enterococcus faecalis</i>	9 sitios de Tijuana	Hurtado et al. (2014)	
	Sistema BioSampler SKC y caja Petri (G/S) 30 min	<i>Bacillus</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Paenisporsarcina</i> , <i>Massilia</i> , <i>Paenibacillus</i> , <i>Proteus</i> , <i>Brevibacillus</i> y <i>Desemzia</i>	Zona Metropolitana del Valle de México	Jacinto (2013)
	Sistema BioSampler SKC	<i>Actinobacterium</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Bacillus</i>	Zona Metropolitana del Valle de México	De Vizcaya-Ruiz et al. (2006)
	Muestreador Andersen (2 etapas)	Bacilos cortos sin espora y <i>Streptococcus</i>	2 estaciones del metro. CDMX	Hernández-Castillo et al. (2014)
	Muestreador Andersen (6 etapas)	Coliformes fecales	UNAM. CDMX	Rosas et al. (1994)
	Gravedad (placas Petri LB) 30 min	<i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Erwinia</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Gluconacetobacter</i> , <i>Proteus</i> , <i>Exiguobacterium</i> y <i>Staphylococcus</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Yersinia</i> y <i>Escherichia coli</i>	12 puntos de la CDMX y 7 puntos del Estado de México	García-Mena et al. (2016)
	Gravedad (ATS) 5 min y analizador de aire	<i>Aerococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Proteus</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Chryseomona</i> , <i>Vibrio</i> , <i>Citrobacter</i>	Centro histórico. Guadalajara	García et al. (2009)
	Gravedad y analizador de aire	<i>Bacillus micoides</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Coliformes</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Estreptococos</i> , <i>Haemophilus</i> , <i>Micrococcos</i> , <i>Neumococos</i> , <i>Nocardia asteroides</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Pseudomonas</i>	Relleno sanitario, lagunas de lixiviados, planta de composteo y planta separación. Mérida, Yucatán	Rodríguez et al. (2006)
	Cajas Petri (AN y YPG) 15 min	Morfología bacilar	Túnel Santa Fe. Guanajuato	Landeros et al. (2015)
	Cajas Petri (Muller-Hinton) 30 min	<i>Curtobacterium</i> , <i>Curoobacterium flaccumfaciens</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Exiguobacterium</i> y <i>Pantoea agglomerans</i>	Estación de monitoreo ambiental: Oxtotitlán. Toluca	Núñez-Cardona et al. (2014)
	Caja Petri (ATS) 2 horas	<i>S. aureus</i> , <i>S. haemolyticus</i> , <i>S. marcescens</i> , <i>S. haemolyticus</i> , <i>S. capitis</i> y <i>S. auricularis</i>	Hospital General de la SSA. Jojutla, Morelos	Barrios-Casarrubias et al. (2007)
	Cajas Petri 5 min	<i>Staphylococcus</i> y <i>Streptococcus</i> , bacterias Gram positivas	Industria zapatera. Puebla	Castañeda et al. (2006)

Abreviaciones: LB: Luria-Bertani. AN: agar nutritivo. YPG: extracto de levadura-peptona glucosa. G/S: Agar gelosa sangre. ATS: Agar tripticaseína soya. CDMX: Ciudad de México.

Los bioaerosoles, específicamente las bacterias pueden ser colectadas mediante la separación de las partículas a las cuales están unidas, aplicando distintas fuerzas físicas producidas por algún dispositivo, éstos pueden ser clasificados por los principios que constituyen algunos métodos. En la tabla 2 se observa la clasificación de las técnicas de muestreo para la colecta de bacterias del aire.

Tabla 2. Clasificación de algunas técnicas y equipos de muestreo utilizados para el estudio de las bacterias presentes en el aire.

Muestreadores por precipitación	- Precipitación gravimétrica	Placas de Petri
Muestreadores por impacto	- Impacto por succión	Sistema BioSampler SKC Muestreador Burkard
	- Impacto en cascada	Captador Andersen
	- Muestreadores inerciales	Mair T (Millipore)
		Sistema M. Air T Muestreador SAS MAS-100 (Merck)
- Por impactación y acción centrífuga	Muestreador RCS	
Muestreadores por filtración	- Filtros en medios sólidos	Filtros de fibra Filtros por membrana Filtros por cassettes
		- Filtros en medios líquidos
Muestreadores biológicos	- Técnicas de biología molecular	Secuenciación masiva, otras
	- Técnicas inmunológicas	

*Modificado de Guardino (s/a) y Belmonte (2003).

CONCLUSIONES

El muestreo por precipitación gravimétrica utilizando cajas Petri con cualquier medio de cultivo, ha sido hasta ahora el más utilizado para identificar bacterias en el aire, su fácil manejo permite llevar a cabo estudios de microorganismos suspendidos. Por consiguiente, existen más alternativas de muestreo, sin embargo en algunos casos los costos económicos que implicarían adquirirlos, podrían ser una limitante para utilizarlos.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Barrios-Casarrubias, J. Castro-Ramírez, G. Rivera-Casales, J. A. Vences-Martínez, “Aislamiento de bacterias del ambiente y superficies, resistentes a antibióticos y antisépticos, del Hospital General de la SSA de Jojutla Morelos, México”, *Bioquímica.*, Vol. 32, SuA, 2007, pp. 108.
2. A. De Vizcaya-Ruiz, M. E. Gutiérrez-Castillo, M. Uribe-Ramírez, M. E. Cebrián, V. Mugica-Alvarez, J. Sepúlveda, E. Alfaro-Moreno, “Characterization and in vitro biological effects of concentrated particulate matter from Mexico City”, *Atmos. Environ.*, Vol. 40,2, 2006, pp. 583-592.

3. E. I. R. Castañeda, M. P. Morales, F. F. Avelino, E. B. Chávez, A. T. Espinosa, E. T. Morales. "Cuantificación de bioaerosoles en las áreas de proceso de una industria zapatera poblana y su relación con la salud de los trabajadores", *Enf. Infec. y Microb.*, Vol. 26, 1, 2006, pp. 1-8.
4. F. J. Flores-Tena, L. M. Pardave, I. Valenzuela, "Estudio aerobiológico de la zona San Nicolás, Municipio de Aguascalientes", *Inv. y Cs.* Vol. 37, 2007, pp. 13-18.
5. I. Rosas, A. Yela, C. B. Santos, "Occurrence of airborne enteric bacteria in Mexico City", *Aerobiologia*, Vol. 10, 1, 1994, pp.39-45.
6. Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. "Informe Nacional de Calidad del Aire 2014, México", 2015, pp. 1-242. Disponible en https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/191420/2015_Informe_de_Calidad.pdf. Última consulta 15 de abril de 2017.
7. J. Belmonte, "Técnica para captar e identificar los pólenes", Universitat, UAB., 2003, pp. 1-67. Disponible en: <http://lap.uab.cat/aerobiologia/es/methods>
8. 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. Cervantes-González, M. T. Núñez-Cardona, "Airborne Bacterial Diversity from the Low Atmosphere of Greater Mexico City", *Microb. Ecol.*, Vol. 72, 1, 2016, pp. 70-84.
9. J. V. García, A. X. B. González, M. M. Orozco, J. S. Casas, B. P. Rodríguez, A. R. Rosas, G. P. Hernández, "Calidad bacteriológica del aire en el centro histórico de la ciudad de Guadalajara", *Air. y Sal.*, 2009, pp. 63-79.
10. L. Hurtado, G. Rodríguez, J. López, J. E. Castillo, L. Molina, M. Zavala, P. J. Quintana, "Characterization of atmospheric bioaerosols at 9 sites in Tijuana, Mexico", *Atmos. Environ.*, Vol. 96, 2014, pp. 430-436.
11. L. R. C. Gutiérrez, S. T. R. Núñez, M. I. D. C. López, C. A. B. Campos, "Determinación de género de coliformes fecales presentes en aire de un rastro municipal", *Avanc. en la Inv. Cient. en el CUCBA*, 2005, pp. 592-596.
12. M. M. Jacinto, "Estudio de la composición de las bacterias aerotransportadas en la atmósfera baja de la zona Metropolitana del Valle de México", UNAM., [Tesis Lic.], 2013, pp. 1-50.
13. M. Maldonado-Vega, J. J. Peña-Cabriales, S. V. De Los Santos, A. P. Castellanos-Arévalo, D. Camarena-Pozos, B. Arévalo-Rivas, L. Valdés-Santiago, L. J. Hernández-Valadez, D. L. P. Guzmán, "Bioaerosoles y evaluación de la calidad del aire en dos centros hospitalarios ubicados en León, Guanajuato, México", *Rev. Int. de Contam. Ambient.*, Vol. 30, 4, 2014, pp. 351-363.
14. M. T. Núñez-Cardona, J. A. Bustos-Martínez, A. Hamdan-Partida, E. Chavez-Ibañez, R. V. Díaz-Godoy, M. E. Gutiérrez-Castillo, "Identificación de bacterias aerotransportadas aisladas de la estación de monitoreo Oxtotitlan (Estado de México). Mediante el análisis de su 16S rADN", 1er. Congreso Nacional Autónoma de Puebla, 2014, pp.139.
15. O. V. Hernández-Castillo, M. T. Mugica-Álvarez, J. M. Castañeda-Briones, F. Murcia, Y. García-Franco, F. Briseño, "Aerobiological study in the Mexico City subway system", *Aerobiologia*, Vol. 30, 2014, pp. 357-367.
16. S. A. Landeros, M. J. A. Puy, V. Z. Reyes Zamudio, A. V. Álvarez, "Estudio de la diversidad de Microorganismos en los túneles de la ciudad de Guanajuato", *Jvns. en la Cs.*, Vol. 1, 2, 2015, pp. 564-567.
17. S. G. Rodríguez, M. R. R. Sauri, I. A. Peniche, J. Á. Pacheco, "Dispersión de materiales aerotransportables viables, en el área de tratamiento y disposición final de residuos sólidos municipales de la Cd. de Mérida, Yucatán", *Rev. AIDIS de Ing. y Cs. Ambien.: Inv. des. y prác.*, Vol. 1, 1, 2006, pp. 1-12.
18. X. S. Guardino, "Medición de contaminantes biológicos en el aire", UOC., CC-BY-NC-ND•PID_00186786, pp. 13-67.

DIVERSIDAD DE LA COMUNIDAD ÍCTICA DEL COMPLEJO LAGUNAR GRANDE, VERACRUZ, MÉXICO (2014-2015).

Patricia Silva Montoya, Catalina Machuca Rodríguez, Ernesto Mendoza Vallejo

Laboratorio 7 planta alta UMIEZ. FES Zaragoza, UNAM

RESUMEN

Las características hidrodinámicas y sedimentológicas estuáricas de los ambientes lagunar costeros son responsables de las altas tasas de productividad primaria resultando ambientes de gran diversidad, característicos por brindar hábitats de crianza, alimentación y refugio de diversas especies, como es el caso particular de los peces costeros integrados a estos ambientes. Es indispensable poseer conocimiento acerca de la estructura y función de esta comunidad, los cuales son fuente de información e indicadores para la conservación de estos ecosistemas proveedores de recursos y servicios ambientales.

Se aborda el análisis comparativo de los sistemas que conforman el complejo lagunar costero Grande, localizado en la parte central del estado de Veracruz: lagunas Grande y Chica, unidas por un canal, y la conexión entre este complejo y la zona marina conocida como La Barra. Debido a la dinámica particular de cada sistema, probablemente exista diferencia significativa en la complejidad del ensamblado y la calidad de sus especies.

Se realizaron colectas mensuales (marzo 2014 a agosto 2015), cubriendo las temporadas climáticas (secas, lluvias y nortes). Las unidades de muestreo se delimitaron en 12 estaciones establecidas a lo largo del complejo lagunar. Se utilizó una red estacionaria (longitud 180m, ancho 1m y abertura de 2.5 pulgadas). Los organismos se determinaron a nivel taxonómico específico y se fijaron en formalina al 15%. Posteriormente fueron preservados en alcohol al 70%. Se registró un total de 1367 organismos, distribuidos en 48 especies, 35 géneros, 23 familias y 9 órdenes. Las familias mejor representadas fueron Gerreidae, Sciaenidae, Carangidae y Cichlidae. Los valores de diversidad de Shannon a través de los meses varían alrededor de 3 bits/individuo. En la complejidad estructural de la comunidad dominan los carnívoros: *Centropomus undecimalis*, *Eucinostomus melanopterus* y *Lujtanus griseus*, con respecto a los omnívoros se encuentran: *Oreochromis mossambicus* y *Poecilia mexicana*. Los tres sistemas, laguna Grande, laguna Chica y la Barra presentan diferencia significativa en cuanto a la composición de especies y valores de diversidad a lo largo de las temporadas.

INTRODUCCIÓN

En términos de diversidad y niveles tróficos, las características de los sistemas costeros se traducen en la colonización de numerosas especies ícticas (fundamentalmente de origen marino), cuyo ciclo de vida se encuentra adaptado al mesoclima regional y a los microclimas particulares de cada cuenca. La variabilidad hace que estos sistemas lagunar costeros sean únicos, con un ensamblado particular de especies ícticas. Expresado de otra manera, representa a un subconjunto de la comunidad regional de peces.

Los ecosistemas lagunar costero tropicales se encuentran asociados a la vegetación de manglar, y pantanos de macrofitas (*Spartina spp.*) en regiones templadas (Flores, Agraz y Benítez, 2007, p. 147), producen en promedio 100 kilogramos de peces por hectárea al año lo que representa una producción por unidad de área del doble de la que se tiene en zonas litorales y en lagos continentales (Contreras y Castañeda, 2004), además de albergar el 70% de las especies de importancia comercial a nivel nacional, por lo que son consideradas de gran importancia para la actividad pesquera (Flores et al., 2007, p. 147).

La característica más importante de lagunas costeras tropicales son sus altas tasas de productividad primaria tanto vía fotosintética como de la quimiosíntesis, favoreciendo el establecimiento de diversas especies (Arreola, 2008, p.1), lo cual se atribuye a la dinámica hidrológica que participa en el transporte de materiales parentales al sistema lagunar; haciendo de estos sistemas hábitats de crianza, alimentación o refugio de diversas especies de invertebrados, peces y aves (Day et al., 1989, citado por Arreola, 2008, p. 1). La influencia hidrológica continental y marina que reciben, permanente o efímera, les otorga un gran dinamismo, imprimiéndoles características particulares únicas, lo que hace indispensable el reconocimiento de su estructura, funcionamiento e interrelaciones de sus componentes abióticos y bióticos, no solo para la conservación de ecosistemas ricos en biodiversidad sino también como fuentes de diversos servicios ambientales.

Las comunidades ícticas establecidas en las lagunas costeras son el producto de la historia evolutiva tanto de las especies que la conforman como de estos ecosistemas.

El litoral mexicano cuenta con 11 592.76 km² (Álvarez, 1994, p. 13), en ellos existen 137 lagunas costeras, de las cuales 92 pertenecen al litoral del Pacífico y 45 al Golfo de México y el Caribe. (INECC, n. d., p. 181.). Particularmente el estado de Veracruz es considerado con alto potencial hidrológico, en el que se encuentran al menos 34 lagunas costeras (Contreras, 2005, p. 213), se estima que hacia sus costas escurre aproximadamente el 30% (121 000 hm³) del escurrimiento total nacional (Pérez, O. 2011, p. 290). Teniendo en cuenta su importancia en el aspecto ambiental y socioeconómico, el objetivo central de este trabajo es proporcionar información de diversidad acerca de la comunidad de peces del complejo lagunar costero Grande, ubicado en el municipio Vega de Alatorre, Veracruz.

TEORÍA

Ictiofauna

Los peces son organismos con gran capacidad adaptativa, lo que les ha conferido compleja diversidad morfológica, fisiológica y conductual, favoreciendo así la actividad biológica normal en un ambiente altamente dinámico (Pascual, n. d., p. 3), permitiéndoles incursionar en ambientes marinos, dulceacuícolas y salobres (Burnes, 2009, p. 1). Siendo dentro de los vertebrados el grupo de mayor diversidad, con un número de especies que alcanza los 34,320 (Eschmeyer, 2017). Una proporción considerable de especies icticas, alrededor del 1.3%, se encuentran relacionadas a ecosistemas con parámetros de temperatura, oxígeno o salinidad muy fluctuantes, condiciones que prevalecen en lagunas costeras.

En términos de salinidad, los peces que incursionan en este tipo de lagunas son conocidos como eurihalinos, llegando a ser considerados como residentes permanentes o visitantes temporales en alguna etapa de su ciclo de vida.

La comunidad de peces posee un papel importante en la permanencia y evolución de estos ecosistemas, siendo los principales consumidores al ocupar todos los niveles tróficos, controlando así el flujo de energía en el sistema y formando parte de la reserva energética del mismo (Yáñez, 1977).

Lagunas costeras

Los sistemas lagunares poseen ciclos biogeoquímicos complejos debido a los cambios ambientales y locales que presentan, además de un gran número de servicios ambientales, cumpliendo un papel socio-económico importante, siendo áreas de refugio, alimentación y reproducción de por lo menos 50% de las especies de las pesquerías litorales (Toledo, 2005, p. 35). Entre sus principales funciones ecológicas se encuentran la protección del litoral, mantenimiento de la calidad del agua, alta productividad primaria y ser hábitats importantes para una gran diversidad de especies que los habitan de manera permanente, cíclica, estacional u ocasional, en diferentes etapas de su ciclo de vida (Vega y Hernández, 2011, p. 157). Las altas tasas de productividad características de estos sistemas, se deben a la contribución de varios tipos de productores primarios (fitoplancton y detritus), la energía de mareas y circulación, la abundancia de nutrientes dada por la aportación de material vegetal y animal, descargas de origen epicontinental y la conservación, retención y eficiencia del reciclaje de nutrientes entre hábitats bentónico, pelágico y humedales (Arreola 2003, p. 1). Sin embargo el aporte de ríos conlleva también un riesgo ya que por medio de estos afluentes el sistema está expuesto a contaminantes de origen antrópico. Arreola (2003, p. 3) expone que las actividades humanas sobre estos ecosistemas puede manifestarse con efectos ambientales adversos tales como sobre-enriquecimiento por nutrientes, contaminación por metales pesados, contaminación por patógenos, pérdida de hábitats y agotamiento de recursos pesqueros, creando necesidades específicas de restauración y manejo para preservar sus funciones ecológicas y económicas.

Índices de diversidad

La expresión matemática de la biodiversidad resulta ser una herramienta útil para describir el grado de complejidad estructural de las comunidades, sin embargo no resulta ser completa para la correcta interpretación biológica de las mismas, siendo necesario tener claros los límites de espacio y tiempo (Halffter y Moreno, 2005, p. 5), así como los diversos procedimientos de recolecta.

El índice de Shannon-Weaver (Shannon y Weaver, 1949), es el más utilizado en trabajos de ecología (Jiménez, 1999, p. 19), y refleja la heterogeneidad de una comunidad basándose en dos factores: el número de especies presentes y su abundancia relativa. Según el concepto es una medida del grado de incertidumbre asociada a la selección aleatoria de un individuo en la comunidad (Pla, 2006).

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \log(p_i) \quad (1)$$

Donde:

H' = Índice de Shannon-Weaver, contenido de información en bits/individuo en muestras al azar provenientes de una comunidad de la que se conoce el número total de especies. El logaritmo de base dos es el aplicado en la formulación.

p_i = Abundancia proporcional de la i ésima especie.

El índice de Simpson (1949), índice de dominancia, es otro de los más comunes entre los investigadores, éste mide la probabilidad de encontrar dos individuos de la misma especie en dos extracciones sucesivas al azar sin reposición.

$$\lambda = \sum_{i=1}^s p_i^2 \quad (2)$$

Debido a que su valor es inverso a la equidad, la diversidad puede calcularse como $1-\lambda$ (Moreno, C. E. 2001, p. 41)

$$Dsi = 1 - \lambda \quad (3)$$

Otro índice no paramétrico es el propuesto por Hill (1973), el cual en una serie de números, mide el denominado número efectivo de especies presentes en una muestra, siendo una medida del grado de distribución de las abundancias relativas entre las especies; los números de Hill poseen la ventaja de satisfacer los criterios de sencillez al depender de una única variable, coherencia debido a que sus unidades son en número de especies, interpretación en escala aritmética y valor heurístico (Segnini, 1995 p. 2).

Número 0: $N_0 = S$

Número 1: $N_1 = e^{H'}$ *

Número 2: $N_2 = 1/\lambda$

*La base del exponente está dada por la base del logaritmo utilizado para calcular H' , en el caso particular de este trabajo se utilizó base 2

PARTE EXPERIMENTAL

Área de estudio

El complejo lagunar Grande se localiza entre los límites municipales de Nautla y Vega de Alatorre, del estado de Veracruz, en la parte occidental del Golfo de México (20°02' y 20°06' N- 96°38' y 96°41' W) (Aguirre, 2013, p. 146). Está conformado por tres cuerpos: Laguna Chica (LC) y Laguna Grande (LG), con una superficie total de 22.5km², y La Barra (LB) con una longitud de 300m de anchura (variando según la época del año) y 3.5km de largo. Laguna Chica se encuentra al norte con una longitud de 3km y ancho de 0.8km, mientras que Laguna Grande al sur, cuenta con 4.7km de longitud y 1.5km de ancho, La Barra se localiza al sureste de ambas lagunas y conecta la zona nerítica con LG. El sistema es somero con una profundidad media de 0.9m y amplitud de marea de 0.4 a 0.6m. Las aportaciones de aguas continentales se dan por ríos de poco caudal, en LG por "El Diamante", "El Carey" y "El Salado", y en LC por "El Huanal". Anteriormente el complejo mantenía una importante aportación de parte del río Colipa, desembocando en La Barra, sin embargo desde el año 1992 el huracán "Gertz" modificó las características físicas del complejo, con lo cual el río Colipa desemboca directamente al Golfo de México, perdiendo así la aportación de agua epicontinental más importante del complejo. En la actualidad la abertura de La Barra se lleva a cabo de manera artificial y se realiza según la conveniencia de las cooperativas pesqueras.

Trabajo de campo

Las colectas se realizaron mensualmente de junio 2015 a mayo 2016, cubriendo las temporadas climáticas (secas, lluvias y nortes). Las unidades de muestreo se delimitaron en 12 estaciones establecidas a lo largo del complejo lagunar abarcando áreas de conchal, arenosas y fangosas, entre éstas zonas de vegetación (manglar y vegetación sumergida), esteros (El Diamante, El Carey y el Huanal) y zona de descargas (El Salado). Se tomaron variables ambientales de salinidad (‰), temperatura ambiente (°C), temperatura del agua (°C), oxígeno disuelto (ppm), pH, visibilidad y profundidad (m). Se utilizó una red estacionaria (longitud 180m, ancho 1m y abertura de 2.5 pulgadas). Los organismos se mantuvieron en hielo para evitar su descomposición, posteriormente se cuantificó la abundancia de cada una de las especies y, con la ayuda de un escalímetro y una balanza granataria se determinaron la longitud patrón (L_p) y el peso total individual (P_t), respectivamente. Se tomaron fotografías in situ del ejemplar en fresco para conservar características que se pierden durante el proceso de fijación, indispensables para determinación del ejemplar. Se inyectaron con formalina al 15%, neutralizada con borato de sodio, en la parte abdominal, lateral y dorsal, éstos se sumergieron en la misma solución para su fijación y transporte al laboratorio.

Trabajo de laboratorio

Pasada una semana después de la colecta, los organismos fueron lavados con agua corriente y sumergidos en ella durante 24 horas por 3 días (con un cambio de agua por día), posteriormente se mantuvieron inmersos en alcohol etílico al 70% para su preservación, pasando a formar parte de la colección de peces de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

La determinación taxonómica se apoyó en claves taxonómicas (FAO, 2002 y Castro-Aguirre, 1999) y paginas virtuales de bases de datos (FishBase, 2016; Eschmeyer, 2017).

Trabajo de gabinete

Las muestras se manejaron en tres conjuntos: sitio 1 (La Barra), sitio 2 (Laguna Grande) y sitio 3 (Laguna Chica), (Figura 1). Se construyó una matriz de datos para la presencia-ausencia de las especies encontradas en el sistema lagunar, además de su abundancia las cuales sirvieron como base para los análisis posteriores. Los índices utilizados para cada mes fueron Shannon y Simpson, además de números de Hill. Se obtuvieron las categorías tróficas de los organismos a partir de referencias bibliográficas, de acuerdo a la clasificación de Yáñez (1977, p. 9)

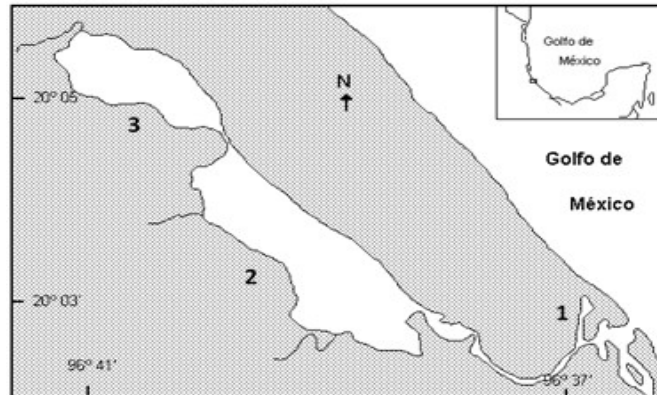


Figura 11 Complejo lagunar costero Grande, Veracruz, México. La Barra (1), Laguna Grande (2), Laguna Chica (3) (Modificado de

Las pruebas estadísticas utilizadas fueron Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilks para normalidad, además de las pruebas de Kruskal-Wallis y Chi cuadrada para determinar la similitud o diferencia entre los tres subsistemas con base en los valores de abundancia y presencia de especies.

RESULTADOS

Se registró un total de 1367 organismos, distribuidos en 48 especies, 35 géneros, 23 familias y 9 órdenes (Nelson, Grande y Wilson, 2016). Las familias mejor representadas son Gerreidae con 8 especies, Sciaenidae con 5 especies, Carangidae y Cichlidae con 4 especies. Los valores de N_2 a través de los meses varían alrededor de 4 especies sobresalientes por su dominancia según la abundancia, la equitatividad mostró un significativo aumento en el mes de junio, probablemente influenciada por la abertura de la conexión entre el mar y la laguna (Tabla 1). La Barra presento los valores más bajos (2 bits/ind), con un aumento importante en el mes de julio, posible remanente de la interacción con el agua marina. Laguna Grande presentó los valores más altos en cuenta a la diversidad de Shannon (3 bits/ind) a lo largo de las tres temporadas.

Tabla 5. *Riqueza de especies, Índices de Shannon-Weaver y de Simpson, Números de Hill de cada subsistema a través de los meses. LB = La Barra, LG = Laguna Grande, LC = Laguna Chica.*

MES	Zona	Spp	H'	Dsi	N ₀	N ₁	N ₂	MES	Zona	Spp	H'	Dsi	N ₀	N ₁	N ₂
MARZO	LB	8	1.85	0.57	8	4	2	SEPTIEMBRE	LB	10	1.73	0.51	10	3	2
	LG	7	1.91	0.64	7	4	3		LG	18	3.41	0.87	18	11	8
	LC	-	-	-	-	-	-		LC	8	2.66	0.8	8	6	5

MAYO	LB	6	1.99	0.69	6	4	3	OCTUBRE	LB	10	2.27	0.73	10	5	4
	LG	10	2.75	0.82	10	7	6		LG	12	2.77	0.78	12	7	5
	LC	-	-	-	-	-	-		LC	6	2.29	0.76	6	5	4
JUNIO	LB	12	2.05	0.6	12	4	3	NOVIEMBRE	LB	7	2.27	0.78	7	5	4
	LG	13	3.33	0.89	13	10	9		LG	13	2.77	0.84	13	7	6
	LC	7	2.38	0.77	7	5	4		LC	7	2.29	0.59	7	5	2
JULIO	LB	19	3.36	0.86	19	10	7	DICIEMBRE	LB	5	2.2	0.77	5	5	4
	LG	12	3.12	0.86	12	9	7		LG	13	3.24	0.87	13	9	8
	LC	11	2.91	0.83	11	8	6		LC	5	2.04	0.73	5	4	4
AGOSTO	LB	5	1.22	0.42	5	2	2	ENERO	LB	5	1.85	0.67	5	4	3
	LG	12	2.29	0.78	12	5	5		LG	9	2.3	0.72	9	5	4
	LC	8	2.66	0.8	8	6	5		LC	3	1.58	0.67	3	3	3

El sistema Laguna Grande presento el número mayor de especies durante todo el año de colecta, al igual que una mayor abundancia en comparación a La Barra y Laguna Chica (Tabla 2). Laguna Chica fue el de menor número de especies durante las temporadas y presentó 0 organismos recolectados en marzo y mayo.

Tabla 6. Abundancia real de cada subsistema en todo el año de colecta

LB		LG	
<i>Eucinostomus melanopterus</i> (Bleeker, 1863)	228	<i>Mugil curema</i> Valenciennes, 1836	182
<i>Poecilia mexicana</i> Steindachner, 1863	59	<i>Diapterus auratus</i> Ranzani, 1840	95
<i>Centropomus undecimalis</i> (Bloch, 1792)	44	<i>Centropomus undecimalis</i> (Bloch, 1792)	93
<i>Mugil curema</i> Valenciennes, 1836	32	<i>Eugerres plumieri</i> (Cuvier, 1830)	55
<i>Diapterus rhombeus</i> (Cuvier, 1829)	27	<i>Centropomus parallelus</i> Poey, 1860	49
<i>Citharichthys spilopterus</i> (Günther, 1862)	25	<i>Micropogonias undulatus</i> (Linnaeus, 1766)	34
<i>Centropomus parallelus</i> Poey, 1860	20	<i>Lutjanus griseus</i> (Linnaeus, 1758)	30
<i>Caranx hippos</i> (Linnaeus, 1766)	18	<i>Cathorops aguadulce</i> (Meek, 1904)	29
<i>Brevoortia gunteri</i> Hildebrand, 1948	11	<i>Mugil cephalus</i> Linnaeus, 1758	21
OTROS (26 spp)	72	<i>Diapterus rhombeus</i> (Cuvier, 1829)	17
LC		<i>Caranx hippos</i> (Linnaeus, 1766)	12
<i>Mugil curema</i> Valenciennes, 1836	32	<i>Bardiella ronchus</i> (Cuvier, 1830)	9
<i>Eugerres plumieri</i> (Cuvier, 1830)	22	OTROS (15 spp)	43
<i>Diapterus auratus</i> Ranzani, 1840	19		
<i>Cathorops aguadulce</i> (Meek, 1904)	18		
<i>Centropomus parallelus</i> Poey, 1860	18		
<i>Mugil cephalus</i> Linnaeus, 1758	16		
OTROS (12 spp)	37		

En los tres subsistemas se encontró un mayor porcentaje de especies de primer orden (Tabla 3). Sin embargo considerando a las especies sobresalientes por su abundancia se observó que especies carnívoras como *Archosargus probatocephalus*, *Cathorops aguadulce*, *Centropomus undecimales*, *Eucinostomus melanopterus* y *Lutjanus griseus* dominan con respecto a los omnívoros como *Mugil cephalus*, *Oreochromis mossambicus* y *Poecilia mexicana*.

Tabla 7. Porcentaje de especies pertenecientes al primer orden (Planctívoros, detritívoros, herbívoros, omnívoros), segundo orden (mayormente carnívoros) y tercer orden (exclusivamente carnívoros), en cada subsistema.

CATEGORÍA	LB	LG	LC
------------------	-----------	-----------	-----------

TRÓFICA

1 ORDEN	43	52	57
2 ORDEN	37	37	24
3 ORDEN	20	11	19

Las pruebas estadísticas mostraron que las abundancias en los tres sitios se mantienen sin diferencias significativas a lo largo de las temporadas. Sin embargo los tres sitios presentan diferencias significativas en cuanto a la presencia o recambio de especies a lo largo de las temporadas. También se determinó estadísticamente la independencia entre los subsistemas en las temporadas de secas y nortes, no así en la temporada lluviosa.

CONCLUSIONES

Cada laguna tiene componentes particulares que las diferencian entre sí, sin embargo comparten especies entre ambas, lo que indica la estrecha conexión entre ellas. Comparando los resultados con los obtenidos en esta misma laguna costera por Aguirre (2013) destaca una gran diferencia en equitatividad de las especies, siendo menor en dicho trabajo. Analizando la calidad de la comunidad, la frecuencia de las especies y, el peso y talla de los organismos, es notable que las variaciones entre ambos trabajos son debido a sus técnicas de recolecta, ya que la selectividad de la malla de pesca influye definitivamente en los resultados. Por ello se recomienda, para cualquier futuro estudio, elegir cuidadosamente el método de recolecta según sea el objetivo del trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

1. L. Aguirre, P. Perez, y R. Diaz, "Heterogeneidad ambiental y su relación con la diversidad y abundancia de la comunidad de peces en un sistema costero del Golfo de México". *Revista de Biología Tropical*, Vol. 62, 1, 2013, pp. 145-163.
2. A. D. Alvarez y J. Gaitán, "Lagunas Costeras y el Litoral Mexicano: Geología". en *Lagunas Costeras y el Litoral Mexicano*. (Ed. por De la Lanza, G. y Cáceres, C. UABCS: UNAM, 1994), pp. 13-74.
3. J. A. Arreola, "Bases de manejo costero: Patrones ecológicos en la laguna costera Las Guásimas, Territorio Yaqui, México", Doctorado en Ciencias. Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., 2003.
4. J. A. Arreola "Propuestas de Manejo para Tres Lagunas Costeras Prioritarias del Noroeste de México", *Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales* [En línea], 2008, pp. 1-43. Disponible en <http://www.inecc.gob.mx/descargas/ord_ecol/2009_lagunas_costeras_noroeste.pdf> [consulta: 24 de junio de 2015].
5. L. A. Burnes, "Estatus taxonómico de *Gerres cinereus* (Walbaum, 1792), (Teleostei: Gerreidae)", *Maestría en Ciencias en Manejo de Recursos Marinos* (Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, 2009).
6. J. L. Castro, H. Espinosa, J.J Schmitter, "Ictiofauna estuarino-lagunar y vicaria de México", (Editorial Limusa S.A de C.V., México, 1999), Primera edición, pp. 711.
7. E. F. Contreras, y L. O. Castañeda, "La Biodiversidad De Las Lagunas Costeras", en *Ciencias* [En línea], Vol. 76, 2004, pp. 46-56. Disponible en <<http://www.revistaciencias.unam.mx/images/stories/Articles/76/CNS07606.pdf>> [consulta: 24 de junio de 2015].
8. F. Contreras, "Lagunas costeras de Veracruz", en *Estrategia para el manejo costero integral*, (Ed. por Moreno, P., Peresbarbosa, E., Travieso, A. C. Secc. I-III. México: Instituto de Ecología A. C., 2005), pp. 205-227.
9. W. Eschmeyer, R. Fricke y R. van der Laan, "*Catalog of Fishes*", [en línea], 2017, disponible en <<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>> [consulta: 19 de abril de 2017].
10. FAO, "Species Identification Guide For Fishery Purposes and American Society of Ichthyologists and Herpetologists", 2002.

11. F. J. Flores, C. Agraz, y D. Benítez, "Ecosistemas acuáticos costeros: importancia, retos y prioridades para su conservación", en *Perspectivas sobre conservación de ecosistemas acuáticos en México* (Sánchez, O. (comp.), México: Instituto Nacional de Ecología, 2007), pp. 147-166.
12. R. Froese, y D. Pauly. "Fish Base", *World Wide Web electronic publication* (2016), Disponible en <www.fishbase.org>
13. G. Halffter, y C. E. Moreno, "Significado biológico de las diversidades alfa, beta y gamma", en *Sobre diversidades biológicas. El significado de las diversidades alfa, beta y gamma* (Ed. por Halffter, G., Soberón, J., Koleff, P. y Melic A. Zaragoza, España, 2005), pp. 5-18.
14. Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático, *Capítulo 6 Biodiversidad*. (n. d.) Obtenida el 9 de noviembre de 2016, de <<http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/411/cap6.pdf>>
15. S. V. Jiménez, "Abundancia y estructura comunitaria de peces de arrecife rocoso en la zona de isla Cerralvo, B.C.S., México", Maestría en Ciencias con Especialidad en Manejo de Recursos Marinos, Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, 1999.
16. C. E. Moreno, "Métodos para medir la biodiversidad", *M&T-Manuales y Tesis SEA*, Zaragoza, Vol. 1, 2001, pp. 84.
17. J. S. Nelson, T. Grande, M. Wilson, "Fishes of the World" (5a Ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2016)
18. C. Pascual, "Adaptaciones fisiológicas de los animales acuáticos (principalmente los peces y crustáceos) frente a los estresores físicos, químicos, geológicos y biológicos en sistemas marinos y dulceacuícolas" (n. d.), Ensayo de examen predoctoral. Disponible en <http://intranet.sisal.unam.mx/material_apoyo_files/2%20Ensayo%20predoctoral%20sobre%20adaptaciones%20fisiologicas.pdf> [consulta: 27 de junio de 2015].
19. O. Pérez, L. Muñoz, G. Vázquez, M. E. Equihua, P. León, "Hidrología", en *La Biodiversidad en Veracruz: Estudio del Estado* (Ed. por Cruz, A. México: CONABIO, 2011), pp. 289-292.
20. L. Pla, "Biodiversidad: inferencia basada en el índice de Shannon y la Riqueza", [en línea], INCI, Vol. 31, núm. 8, 2006, pp. 583-590. Disponible en <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442006000800008> [consulta: 29 de junio de 2015].
21. S. Segnini, "Medición de la diversidad en una comunidad de insectos", *Bol. Entomol*, Vol. 10, núm. 1, 1995, pp. 105-113.
22. A. Toledo, "Marco conceptual: caracterización ambiental del golfo de México", en *Golfo de México: contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias* (Ed. por Botello, A., Rendón, J., Gold, G. y Agraz, C. México: Universidad Autónoma de Campeche, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Nacional de Ecología, 2005), pp. 25-52.
23. M. E. Vega, y M. Hernández, "Peces de sistemas lagunares y Ciénegas", en *Biodiversidad y desarrollo humano en Yucatán* (Ed. por Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. México: Dirección de Recursos Naturales, 2011), pp. 157-158.
24. A. Yáñez, "Patrones ecológicos y variación cíclica de la estructura trófica de las comunidades neotónicas en lagunas costeras del pacífico de México *Anales del Centro de Ciencias del Mar y Limnología*" [en línea], (1977). Disponible en <<http://biblioweb.tic.unam.mx/cienciasdelmar/centro/1978-1/articulo49.html>> [consulta: 23 de junio de 2015].
25. A. Yáñez, y R. Nugent, "El papel ecológico de los peces en estuarios y lagunas costeras. *Anales del Centro de Ciencias del Mar y Limnología* [en línea], Vol. 4, 1977, pp. 107-144. Disponible en <<http://biblioweb.tic.unam.mx/cienciasdelmar/centro/1977-1/articulo24.html>> [consulta: 23 de junio de 2015].

EFFECTO DE METALES PESADOS EN HONGOS AISLADOS DE TRES AFLUENTES DE LA REGIÓN DEL PAPALOAPAN.

Lucero Vázquez-Velasco, Leticia Guadalupe Navarro-Moreno

Universidad del Papaloapan, Av. Circuito central No. 200, Colonia Parque industrial, Tuxtepec, Oaxaca., C.P.68301. Tel 287-87-5-92-40. lucerovelasco61@gmail.com, Lgnavarrom@hotmail.com.

RESUMEN

En el presente trabajo se muestra una investigación en proceso, en la que se realizó como primera etapa un muestreo de tres afluentes seleccionados, propios de la cuenca del Papaloapan. Se realizó una siembra de las muestras con el fin de obtener hongos microscópicos de sus aguas. Se seleccionaron nueve colonias de acuerdo a sus características microbiológicas y estas fueron expuestas a diferentes concentraciones de metales pesados en la segunda fase del trabajo. Esta fase consistió en la resiembra en microcultivo a diferentes concentraciones de metales pesados (cadmio, plomo, cromo y mercurio) para observar la tolerancia y sensibilidad que presentaban las diferentes colonias, logrando obtener tres colonias resistentes y seis que mostraron sensibilidad de acuerdo a la inhibición de crecimiento que presentaban, esto con el fin de poder usar las colonias resistentes en un proceso biotecnológico de biorremediación.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad existen diversos problemas ambientales que requieren ser atendidos con urgencia inmediata, pues éstos han provocado un sin número de enfermedades por la contaminación del aire, suelo y agua. Es precisamente en el agua donde las ciudades vierten sus residuos industriales y urbanos, provocando la contaminación de los afluentes, pues estos desechos llevan diversos químicos tóxicos, metales pesados, entre otros agentes, que destruyen el equilibrio de ecosistemas llenos de diversas formas de flora y fauna. Los anteriores representan recursos económicos para algunas familias que se dedican a la pesca o a la agricultura y por ello, al ser contaminados estos, sus cosechas o productos no pueden ser consumidos, afectando su economía y su salud al estar en contacto directo con los diversos contaminantes dispersos que están en el agua¹.

Los metales pesados son un grupo de elementos químicos que presentan una densidad alta (5g/mL). Son en general tóxicos para los seres humanos y entre los más susceptibles de presentarse en el agua se destacan: el mercurio (Síndrome de Minamata), el cadmio (toxicidad hepatorenal.), el plomo (Saturnismo, inhibición de síntesis de hemoglobina) y el cromo VI (cáncer de pulmón). Este último puede ser biotransformado por el organismo en el caso de los humanos a cromo III (metabolismo de lípidos)².

Se han establecido una serie de técnicas para tratar de eliminar compuestos tóxicos de las aguas. Entre las más usadas se encuentra la micorremediación o biorremediación, en la cual se utilizan hongos microscópicos capaces de absorber cantidades elevadas de tóxicos como los metales pesados sin sufrir daños notables. Los hongos son eucariontes, heterótrofos, absorben diversas sustancias de aguas y suelos que pueden utilizar o biotransformar para adherirlos a su metabolismo o solo los reservan sin ninguna utilidad³.

TEORÍA

La falta de conciencia y cultura en las diversas partes del país ha llevado a tener una situación crítica en los temas del agua ya que su contaminación ha contribuido a diferentes problemas económicos y sociales. La región de la cuenca del Papaloapan es una muy rica en mantos de agua, de líneas extensas de agua que son importantes para una flora y fauna de gran importancia en el estado.

Se han reportado trabajos relacionados con el empleo de diferentes microorganismos en la detoxificación de aguas contaminadas. Entre ellos se pueden citar a los siguientes.

Tejana-Tovar (2014) estudiaron la absorción de metales pesados en aguas residuales usando material de origen biológico⁴.

García Hernández (2004) trabajó en el aislamiento e identificación de hongos filamentosos tolerantes a metales pesados⁵.

Acosta Rodríguez y su grupo de investigación (2012) llevaron a cabo remoción de metales pesados en aguas residuales provenientes de diversos nichos de aguas contaminadas⁶.

Fonseca y Ruiz (2008) trabajaron en la determinación de la capacidad de remoción de cadmio, plomo y níquel por hongos de la podredumbre blanca inmovilizados⁷.

El objetivo del presente trabajo es obtener hongos microscópicos propios de los afluentes de la Cuenca del Papaloapan que presenten tolerancia a metales pesados, como el plomo, el cromo VI, el cadmio y el mercurio.

En relación con lo anterior, la CONABIO reportó en el informe del Proyecto FM017 en relación con el río Papaloapan lo siguiente.

“El río Papaloapan, que alcanza una longitud aproximada de novecientos kilómetros, es uno de los ecosistemas más ricos de América y el segundo más caudaloso del país. Nace de la unión de dos ríos: el Tehuacán, que baja serpenteando entre la exuberante vegetación de la serranía poblana, y el Quiotepec, que se desliza entre la Sierra de Ixtlán. En su recorrido, en su brazo oriental, el Papaloapan se nutre de diversos afluentes hasta desembocar en el Golfo de México a la altura del puerto de Alvarado, en Veracruz. A lo largo de los kilómetros que lo conforman, sus aguas se tornan tranquilas al ser contenidas, en diversas etapas de su camino, entre las enormes paredes de concreto que forman las presas hidroeléctricas Miguel Alemán y Cerro de Oro; que abastecen de agua potable y energía eléctrica a una buena parte de la región. Ya desde 1947, conscientes de la gravedad del problema de la contaminación, se creó la Comisión del Papaloapan con el fin de lograr el equilibrio entre medio ambiente, desarrollo y preservación cultural, para el bienestar de la región. Son varios los problemas que han influido para que la Comisión no haya dado los resultados esperados a través del tiempo. El río sufre graves problemas de contaminación debido a los desechos químicos que vierten en él fábricas, ingenios y plantas industriales. También son causa de deterioro la basura y los desagües que provienen de las poblaciones ribereñas, así como los cientos de desperdicios que son abandonados en las laderas”⁸.

Lo anterior resulta indicativo de la evidente presencia de metales pesados en el río y/o los afluentes que desembocan en él. Prueba de lo anterior lo constituye el trabajo de Galicia, quién reportó en 2013 la presencia de plomo, cromo y cadmio en muestras de agua del río Papaloapan. La tabla 1 muestra las concentraciones de metales pesados encontradas en la parte del río Papaloapan que cruza por la zona urbana de Tuxtepec, Oaxaca⁹.

Tabla 1. Concentración de metales pesados en el río Papaloapan.

Metal	Concentración (ppm)
Plomo	1.2
Cadmio	2.2-2.3
Cromo	0.75

Lo anterior indica que, muy posiblemente, existan microorganismos que se han adaptado a las condiciones en las que se encuentran las aguas del río Papaloapan y sus alrededores. Actualmente se tiene conocimiento de que las cepas bacterianas *Hafnia alvei* y *Bacillus pumilus*, aisladas del río Papaloapan son microorganismos que muestran resistencia a concentraciones crecientes de plomo. La primera tolera la concentración de 6.59 μM de plomo en el medio de cultivo y la segunda solo alcanza a tolerar la concentración de 5.66⁹.

PARTE EXPERIMENTAL

Recolección de las muestras

Se seleccionaron tres afluentes de la región de la Cuenca del Papaloapan con indicios de contaminación de sus aguas, con frascos estériles se procedió a tomar muestras de tres puntos estratégicos, entre los cuales se encuentran las orillas y el centro de cada afluente. Los lugares en donde se tomaron las muestras se conocen como arroyo San Jacinto, Laguna Lindavista y río Papaloapan en la zona urbana de la Ciudad de Tuxtepec, Oaxaca.

De cada frasco con su muestra se filtró la mitad de su contenido con la ayuda de un embudo y gasa, para retirar restos sólidos.

Antes del sembrado se preparó el medio y se esterilizó con el material que tendría contacto con las muestras de agua para tener las mejores condiciones de asepsia y así evitar posible contaminación. El medio de siembra utilizado fue Agar Dextrosa y Papa (PDA), ya que es selectivo para hongos.

3.2 SIEMBRA DE MUESTRAS EN MEDIO DE CULTIVO SÓLIDO Y SELECCIÓN DE CEPAS.

En una campana de flujo laminar de tipo 2 se realizó la siembra de cada muestra (/tanto los filtrados como los que no fueron filtrados). La muestra se sembró por estriado en toda la superficie de la caja y posteriormente se incubó a 35°C. Se realizaron anotaciones cada 24 horas hasta su crecimiento.

Se seleccionaron los hongos que presentaban características morfológicas importantes a simple vista, tanto en coloración y tamaño de las colonias y que no estuvieran contaminados por otros hongos, bacterias o levaduras.

3.3 PRUEBAS DE RESISTENCIA A METALES PESADOS.

En la resiembra de las colonias originales se utilizó una técnica diferente de sembrado utilizando la picadura en cada punto cardinal del medio y centro, de igual forma se incubó a 35°C y se registraron las observaciones de su crecimiento cada 24 horas.

Posteriormente se realizó una exposición a diferentes concentraciones de metales utilizando una técnica de microcultivo en el medio agar papa dextrosa (PDA). Se prepararon cajas de agar que contenían concentraciones variables de los metales plomo, cromo, cadmio y mercurio. Las concentraciones utilizadas fueron: 0.32, 0.63, 1.95, 5.66 y 6.59 µM de cada uno de los metales mencionados. Posteriormente, con material estéril, se cortaron cuadros de agar de 1.5 x 1.5 cm y se colocaron en cajas Petri vacías y estériles. Se adicionó un cuadro de PDA sin metal como control libre de metales pesados, reuniendo en cada caja de Petri seis cuadros de agar.

Se sembró en las cajas las cepas puras obtenidas en la etapa de re siembra, por picadura con asa bacteriológica. Se monitoreó tanto el crecimiento, las características coloniales y la estructura microscópica para cada cepa cada 24 horas.

RESULTADOS

Se eligieron nueve colonias de hongos aislados de los diferentes efluentes. La Tabla 2 muestra los lugares de recolección de muestras y las colonias obtenidas.

Tabla 2. Colonias seleccionadas a partir de los efluentes elegidos.

Zona de recolección	Colonias aisladas
Arroyo San Jacinto	2
Laguna Lindavista	5
Rio Papaloapan	2

A partir de esta selección se eligieron tres colonias resistentes a diferentes concentraciones de los metales plomo, cromo, cadmio y mercurio a las concentraciones señaladas en la sección de metodología. Las tablas 3 a 6 muestran el crecimiento de las tres colonias en función de la concentración de metal utilizado.

Tabla 3. Crecimiento de colonias en concentraciones crecientes de plomo.

Concentración (µM)	Colonia 1	Colonia 2	Colonia 3
0.32	✓	✓	✓
0.63	✓	✓	✓
1.95	✓	✓	✓
5.66	✓	✓	✓
6.59	x	x	✓

Tabla 4. Crecimiento de colonias en concentraciones crecientes de cromo.

Concentración (µM)	Colonia 1	Colonia 2	Colonia 3
0.32	✓	✓	✓
0.63	✓	✓	✓
1.95	✓	✓	✓
5.66	X	X	✓
6.59	x	X	✓

Tabla 5. Crecimiento de colonias en concentraciones crecientes de cadmio.

Concentración (µM)	Colonia 1	Colonia 2	Colonia 3
0.32	✓	✓	✓

0.63	✓	✓	✓
1.95	✓	✓	✓
5.66	✓	X	✓
6.59	x	X	X

Tabla 6. Crecimiento de colonias en concentraciones crecientes de mercurio.

Concentración (µM)	Colonia 1	Colonia 2	Colonia 3
0.32	-	-	✓
0.63	-	-	✓
1.95	-	-	✓
5.66	-	-	✓
6.59	-	-	X

CONCLUSIONES

Los microorganismos cuentan con diversos mecanismos de resistencia a metales pesados. El interés de estudiar el efecto de los metales pesados en los hongos se derivó inicialmente de la toxicidad de estos elementos en preparaciones de fungicidas utilizados para el control de patógenos de plantas y para preservar productos naturales y sintéticos. El estudio de la interacción de hongos con metales pesados se debe a tres causas. La primera se relaciona con su ubicua y muchas veces dominante presencia en ambientes contaminados; la segunda se liga a la captación y translocación de metales tóxicos a los cuerpos fructíferos de muchos hongos comestibles y la tercera se correlaciona con la protección que los hongos micorrizos brindan a las plantas contra los metales tóxicos¹⁰.

Las cepas aisladas de los diferentes afluentes seleccionados mostraron diferente susceptibilidad hacia la exposición a concentraciones crecientes de los metales pesados utilizados, de tal manera que de nueve cepas aisladas, tres mostraron mayor resistencia. Al ser expuestos a los metales los hongos mostraron cambios en su estructura colonial y microscópica, lo cual denotó un efecto de los metales sobre el crecimiento normal de los microorganismos.

Con respecto a los resultados parciales obtenidos, se pretende en la tercera etapa del trabajo que aun esta por realizarse, lograr una adaptación a diferentes concentraciones más altas a las usadas en la segunda fase, utilizando una de las cepas que mostro mayor resistencia en comparación de las otras dos que solo en pocas concentraciones tuvieron un crecimiento importante y notorio. Es de gran relevancia poner interés en los diferentes casos de contaminación en los diferentes estados del país, en este caso se crea una luz que alumbrara la oscuridad del rio Papaloapan que tanto hace falta rescatar implementando biotecnología.

BIBLIOGRAFÍA

1. Leticia Guadalupe Navarro Moreno y Aurelio Ramírez Hernández (Julio-Agosto 2014), “Arroyos comunitarios, fuente de vida agotable”, Ciencia, pp. 64-70
2. Marisela García Hernández (Agosto 2004), “Aislamiento e identificación de hongos filamentosos tolerantes a metales pesados en el proceso de lodos activados en una planta de tratamientos de agua residual”, Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biologicas, pp. 3-11.
3. Dilna Damodaran Ra, Mohan B. & Vidya Shetty B. M. “Mushrooms in the remediation of heavy metals from soil”, International Journal of Environmental Pollution Control & Management, Vol. 3, No. 1, July-December 2011; pp. 89-101
4. Candelaria Tejada-Tovar, Ángel Villabona-Ortiz y Luz Garcés-Jaraba “Adsorption of heavy metals in waste water using biological materials”, Tecno Lógicas, ISSN 0123-7799, Vol. 18, No. 34, pp. 109-123. Enero-junio de 2015
5. Marisela García Hernández (Agosto 2004), “Aislamiento e identificación de hongos filamentosos tolerantes a metales pesados en el proceso de lodos activados en una planta de tratamientos de agua residual”, Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biologicas.

6. Acosta Rodriguez, I., J.F. Cárdenas González y V.M. Martínez Juárez (2012), "El uso de diferentes biomásas para la eliminación de metales pesados en sitios contaminados", *Ide@s CONCYTEG*, 7 (85), pp. 911-922.
7. Diana M. Morales Fonseca y Katherine J. Ruiz T. (Julio 2008), "Determinación de la capacidad de remoción de Cadmio, Plomo y Niquel por hongos de la podredumbre blanca inmovilizados", Pontificia Universidad Javeriana.
8. Paulo Maya, J., Lozano-Ramos, T. y E. Soto-Galera. 2011. Actualización del inventario de peces dulceacuícolas del río Papaloapan. Instituto Politécnico Nacional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. FM017. México D. F.
9. Jade Alejandrina Galicia Apolinar (Diciembre 2013), "Efecto de la exposición a plomo en bacterias aisladas de afluentes contaminados", Universidad del Papaloapan, pp. 76, 86-88.
10. Félix Guitiérrez-Corona, Armando Obregón-Herrera y Carmen Cano-Canchola, "Resistencia a los metales pesados en hongos", Cap. 5 , pp. 79-99.

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE DERIVADOS DEL BENCIMIDAZOL CON POTENCIAL ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA.

Monica Irlanda García Aranda; Yolanda de las Mercedes Gómez y Gómez; Efrén Venancio García Baez, Itzia Irene Padilla Martínez.

Instituto Politécnico Nacional-UPIBI, Laboratorio de Química Supramolecular y Nanociencias.

RESUMEN

Los bencimidazoles son compuestos orgánicos aromáticos formados por la fusión de un anillo de benceno con un imidazol. Los derivados de estos compuestos han demostrado tener diferentes actividades con interés farmacológico, como, antiinflamatorios, anticancerígenos, antimicrobianos, antivirales, antidiabéticos, etc. El objetivo de este trabajo es sintetizar 1,2-difenilbencimidazoles y caracterizarlos químicamente mediante espectros de IR y RMN de ^1H y ^{13}C . Se sintetizó el 2-(4-nitrofenil)bencimidazol a partir de la metodología descrita en el 2006 por Navarrete *et al*¹. Una vez obtenido el compuesto se le realizó una reacción de sustitución nucleofílica aromática, utilizando fluorobencenos sustituidos en *para* con grupos funcionales NO_2 y CN . A través de reacciones de hidrólisis ácida y reducción con estaño, se obtuvieron 4 derivados de 1,2-difenilbencimidazoles con potencial actividad farmacológica, cuya estructura fue soportada por las técnicas de caracterización mencionadas.

INTRODUCCION

El bencimidazol es un compuesto orgánico formado por un benceno fusionado a un anillo de imidazol, el cuál puede estar sustituido con grupos arilo para dar lugar a los derivados 1,2-disustituidos del bencimidazol. La sustitución de varios grupos en estos derivados ha presentado diferentes actividades biológicas, por ejemplo: antiparasitaria, antiulcerosa, antihipertensiva, antitumoral, antibacteriana, analgésica, entre otras¹, por lo cual, su estudio es de gran interés farmacéutico para el descubrimiento de nuevas drogas o fármacos.

En años recientes se ha descubierto que los derivados de bencimidazol poseen actividad antiinflamatoria². La inflamación es una respuesta inmune protectora contra estímulos nocivos como patógenos, células dañadas y partículas extrañas³. Cualquier tratamiento de la inflamación implicará un uso extensivo de antiinflamatorios no esteroideos (AINES) debido a su alta eficacia en el tratamiento de dolor, fiebre, inflamación, y trastornos reumáticos⁴. Los AINES constituyen un grupo heterogéneo de compuestos, cuyo mecanismo de acción no se entiende con exactitud, sin embargo, como muchos de los síntomas de la inflamación son causados por las prostaglandinas (PG), la eficacia de los AINES puede atribuirse en parte a su capacidad para inhibir la síntesis y liberación de estas. Esta inhibición se produce a través del bloqueo de la enzima ciclooxigenasa (COX)⁵.

La COX presenta 2 isoformas denominadas COX1 y COX2. La COX1 se encuentra de manera constitutiva en el organismo, principalmente en el riñón y en el tracto gastrointestinal. Desempeña un papel importante en la síntesis de los prostanoideos para propósitos fisiológicos y regula funciones como la protección gastrointestinal, la homeostasis vascular, la hemodinámica renal y la función plaquetaria⁶. La COX2 se manifiesta bajo el efecto inductor de algunos mediadores químicos de la inflamación como son los lipopolisacáridos o citocinas proinflamatorias y amplifica las señales dolorosas que surgen en las áreas de la inflamación. La expresión de la COX2 aumenta hasta 20 veces en los procesos inflamatorios, mientras que la COX1 no lo hace en mayor o menor grado⁷.

Los AINES son compuestos que inhiben ambas isoformas de la COX, razón por la cual su administración produce efectos adversos como ulceración, sangrado gastrointestinal y disfunción plaquetaria, mientras que los efectos terapéuticos están relacionados con la inhibición de la COX2⁸. Por la cuál es necesario descubrir nuevos moléculas que inhiban selectivamente esta enzima.

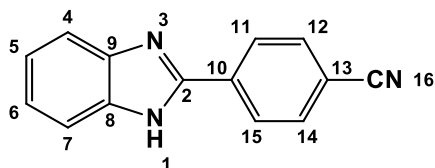
En el año 2013, González-Padilla realizó estudios *in silico* de derivados de 1,2-difenilbencimidazol en COX1 y COX 2, demostrando que poseían una actividad específica sobre COX 2. Estos resultados posibilitan el uso de estos compuestos como antiinflamatorios con actividad específica sobre COX2.

MÉTODOS

Estructura de los compuestos

La síntesis de los derivados del 1,2-difenilbencimidazol, está centrada como primer paso en la formación del 2-fenilbencimidazol. Este se obtuvo mediante la metodología reportada por Navarrete *et al.*, 2006, en donde el anillo de bencimidazol y su sustitución en la posición 2 se forman en un solo paso mediante sustitución nucleofílica entre la 1,2-fenilendiamina y el 4-formilbenzonitrilo

Posteriormente, la posición 1 del 2-fenilbencimidazol, se sustituyó mediante una reacción nucleofílica aromática, utilizando como materia prima fluorobencenos sustituidos en la posición *para* con un grupo R, utilizando un solvente polar aprótico y una base débil para favorecer la reacción.



RESULTADOS Y DISCUSION

Síntesis química

En total se sintetizaron 4 derivados del bencimidazol, los cuales cumplen con las características reportadas en la Tabla 1.

Tabla1. Características fisicoquímicas de los compuestos 1a-d

Compuesto	PM (g/mol)	Formula	Color característico	% rendimiento
1a	219.24	C ₁₄ H ₉ N ₃	Gris claro	~96
1b	340.33	C ₂₀ H ₁₂ N ₄ O ₂	Amarillo	~65
1c	359.33	C ₂₀ H ₁₃ N ₃ O ₄	Amarillo	~56
1d	329.35	C ₂₀ H ₁₅ N ₃ O ₂	Gris claro	~50

La molécula **1a** fue caracterizada mediante RMN de ¹H y ¹³C.

Los 2-fenilbencimidazoles son un grupo de compuestos que forman espectros de ¹H característicos, debido a las propiedades tautoméricas del anillo bencimidazol y la posición en *para* del sustituyente en el C-fenilo, lo cual genera un eje de simetría que divide a la molécula en dos porciones iguales, en donde los protones H5,6, H4,7, H11,15 y H12,14, son equivalentes (Fig. 2). Esto lleva a que se genere una sola señal múltiple para cada par de protones, la cual aparece en la región de los compuestos aromáticos.

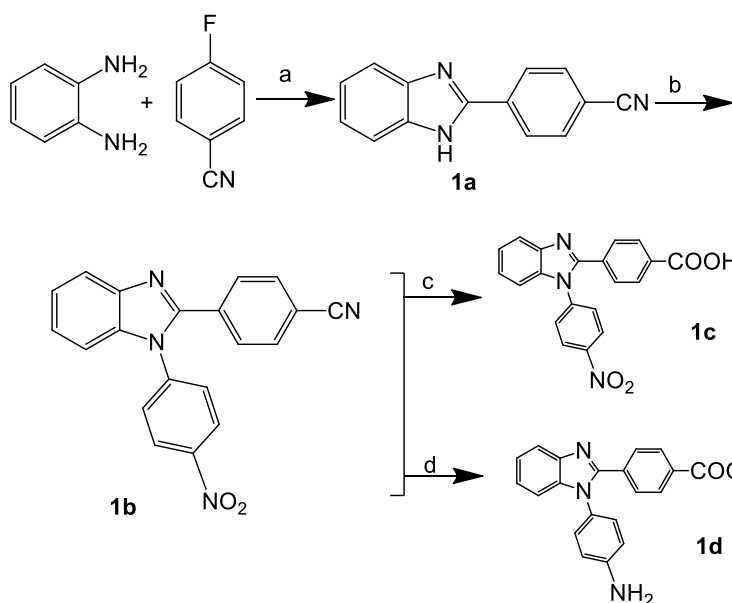


Fig. 1 Síntesis de los compuestos 1a-d. Reactivos y condiciones: (a) DMSO, Na₂S₂O₅, 140 °C, 2 h; (b) DMF, K₂CO₃, 120 °C, 48 h; (c) HCl_{conc.}, Refl, 5 h; (d) HCl_{conc.}, Sn, 60 °C, 2 h.

Fig. 2 Estructura química del 2-(4-nitrilofenil)benzimidazol

Las moléculas **1b-d** fueron identificadas mediante cromatografía de capa fina (TLC), RMN de ¹H y ¹³C. De manera general se pueden observar múltiples señales en los espectros de ¹H y mientras que los espectros de ¹³C muestran desplazamientos característicos para cada sustituyente en la posición 1,2 del fenilbenzimidazol.

Parámetros fisicoquímicos

Las propiedades fisicoquímicas de los fármacos, influyen fuertemente sobre la absorción, distribución, metabolismo y excreción de los fármacos. Mediante la regla cinco de Lipinski, se evaluó de manera empírica, que los derivados del 1,2-fenilbenzimidazol cumplen con los valores establecidos (Tabla 2.)

Tabla 2. Cálculo de los parámetros fisicoquímicos de los compuestos diana.

Compuesto	HD ≤ 5	HA ≤ 10	cLogP ≤ 5	uma ≤ 500
1b	0	6	3.10	340.33
1c	1	7	2.70	359.33
1d	2	5	3.00	329.35

cLogP, coeficiente de partición octanol-agua; HD, número de aceptores de enlaces hidrógeno; HB, número de donadores de enlaces de hidrógeno; uma, unidad de masa atómica. Cálculos obtenidos mediante Chemdraw 11.0.

Propiedades toxicológicas

En algunas ocasiones los fármacos además de tener propiedades terapéuticas, pueden poseer propiedades toxicológicas. Se calculó de manera empírica las propiedades toxicológicas de los compuestos diana. Como se puede observar en la tabla 3, estas propiedades varían dependiendo de los sustituyente en *para* de los C-fenilo.

Tabla 3. Propiedades toxicológicas

Compuesto	Toxicología			
	Mutagénico	Irritante	Tumorigeno	teratógeno
1b	A	N	N	N

1c	A	N	N	N
1d	A	A	B	A

A, Alto; B, Bajo; N, Nulo. Cálculos obtenidos mediante OSIRIS Data Warrior.

CONCLUSIONES

- Se sintetizó el 2-(4-nitrofenil)bencimidazol el cual sirvió de partida para la síntesis de 3 derivados de 1,2-difenilbencimidazoles.
- Los compuestos obtenidos se caracterizaron por RMN de ^1H y ^{13}C y TLC.
- Los 1,2-difenilbencimidazoles cumplen con la regla cinco de Lipinski.
- Los sustituyentes en para de los C-fenilo afectan considerablemente las propiedades toxicológicas de los compuestos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen:

Al CONACYT por la beca de doctorado otorgada a Mónica Irlanda García Aranda

A la secretaria de Investigación y Posgrado del Instituto Politécnico Nacional por el apoyo económico al proyecto 20170504

BIBLIOGRAFÍA

1. L. F. Hernández. "Synthesis and biological activity of 2-(trifluoromethyl)-1H-benzimidazole derivatives against some protozoa andazole derivatives against some protozoa and *Trichinella spiralis*". *Eur J Med Chem.*, Vol. 451, 2010, pp. 3135–3141.
2. Y. Yan. "A reverse method for diversity introduction of benzimidazole to synthesize H(+)/K(+)-ATP enzyme inhibitors". *Bioorg Med Chem Lett.*, Vol. 21, 2011, p. 4189–4192.
3. D.I. Shah., M. Sharma., Y. Bansal., G. Bansal., M. Singh., "Angiotensin II–AT1 receptor antagonists: design, synthesis and evaluation of substituted carboxamido benzimidazole derivatives". *Eur J Med Chem.* Vol. 43, 2008, pp.1808-1812.
4. L. Marnett. "The COXIB Experience: A Look in the Rearview Mirror". *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, Vol. 49, 2009, pp. 265-290
5. M. Gaba, S. Singh & C. Mohan. "Benzimidazole: an emerging scaffold for analgesic and anti-inflammatory agents". *Eur J Med Chem.*, Vol. 76, 2014, pp. 494-505
6. M. C. Gásquez. "Acido araquidónico y radicales libres: su relación con el proceso inflamatorio. *Rev Cubana Invest Bioméd.*, Vol. 14, 1, 1995, pp. 805-815
7. Qing Li, Qinghua Hu, Xinning Wang, Yang Zong, Leilei Zhao, Junhao Xing, Jinpei Zhou and Huibin Zhang. "1,2,Discovery of Novel 2-(piperidin-4-yl)-1H-benzo[d]imidazole Derivatives as Potential Anti-Inflammatory Agents". *Chem Biol Drug Des.*, Vol. 86, 2015, pp. 509–516.
8. S. Peng & A. Duggan. "Gastrointestinal adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs". *Expert Opin Drug Saf.*, Vol. 4, 2005, pp. 157-169.
9. J. E. González. (2013). "Modelado por docking, síntesis, caracterización y evaluación in vitro de derivados del bencimidazol: potenciales inhibidores de la ciclooxigenasa-2". (tesis de maestría). Instituto Politécnico Nacional.
10. G. Navarrete Vázquez., H. Moreno Díaz., F. Aguirre Crespo., I. León Rivera, R. Villalobos Molina. , O. Muñoz Muñoz., S. Estrada Soto. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, Vol. 16, 2006, pp. 4169-4173.

DETECCIÓN RÁPIDA DE FÁRMACOS EN AGUAS RESIDUALES PORCÍCOLAS POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE FLUORESCENCIA

Karina Gabriela León Aguirre, Germán Giacomán Vallejos, Emanuel Hernández Núñez, Avel Adolfo González Sánchez, María del Carmen Ponce Caballero

Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Yucatán, Av. Industrias No Contaminantes por Anillo Periférico Norte, Mérida, Yucatán, Apdo. Postal 150, México.

CINVESTAV-Unidad Mérida, Carretera Antigua a Progreso km. 6, Mérida, Yucatán, C.P. 97310, México.

RESUMEN

Tratándose de las actividades ganaderas en nuestro país, las investigaciones ambientales se habían centrado en los macrocontaminantes regulados en la legislación, sin embargo, el interés creciente en los microcontaminantes, por los efectos que causan a las especies acuáticas y a la salud humana han motivado el desarrollo de técnicas para su detección y tratamiento. Se desarrolló un método para la detección de fármacos, que incluyen tres antibióticos, utilizando espectrofotometría de fluorescencia, la cual ha demostrado ser una valiosa técnica para caracterizar y monitorear aguas residuales rastreando fuentes de contaminación en la región UV-Visible, y a diferencia de los métodos cromatográficos requiere menos tiempo y genera menos residuos. Muestras de agua residual provenientes de 3 granjas porcícolas del estado de Yucatán, que operan con sistema semi-tecnificado, las muestras, tanto de la entrada como de la salida de los sistemas de tratamiento instalados en las granjas, fueron previamente filtradas, se construyeron curvas de calibración para enrofloxacin, oxitetraciclina y sulfametoxazol para el análisis de dichas muestras y se encontraron concentraciones promedio de estos fármacos en el agua residual de la entrada de 0.865 ppm para oxitetraciclina, 0.087 ppm para enrofloxacin y 10.306 ppm para sulfametoxazol. Se realizó la validación del método con respecto a linealidad y límites de detección y cuantificación.

INTRODUCCIÓN

La porcicultura en México, independientemente de ser practicada en todo el país, muestra una gran concentración en pocas entidades, de tal forma que más del 70% de la producción nacional es generada en Jalisco, Sonora, Guanajuato, Puebla, Michoacán y Yucatán¹, éste último, tuvo un rápido desarrollo de la industria porcícola durante las últimas décadas debido al cambio en el esquema de producción del sector y por consecuencia se incrementaron el número de granjas y el volumen de aguas residuales generadas por esta actividad.² La alta concentración de animales en una misma zona favorece la acumulación de una gran cantidad de excretas en el agua residual, lo que representa una grave amenaza ambiental por el riesgo de contaminación al acuífero, debido a que el agua subterránea es la única fuente de agua subterránea en Yucatán, por la naturaleza cársica y alta permeabilidad del suelo de la región, y los contaminantes producidos podrían migrar de la superficie al acuífero y por la dirección de flujo que preferencialmente es hacia el norte llegar a la costa.³

El agua residual porcícola se caracteriza por su alta concentración en materia orgánica, y aunque muchas de las granjas cuentan con sistemas de tratamientos, no están específicamente diseñados para la eliminación de fármacos y otros microcontaminantes orgánicos, por lo que la descarga de este tipo de sustancias podría volverse un serio problema, cuya movilidad en el ambiente, varía según las propiedades fisicoquímicas de cada compuesto, sus metabolitos y productos de degradación, llegando al agua subterránea y contaminando los acuíferos o quedándose retenidos en el suelo y acumulándose, afectando a los organismos vivos⁴.

Los fármacos no solo llegan al ambiente a través de las excretas humanas, muchos fármacos de aplicación veterinaria son usados en ganadería, avicultura y piscicultura para prevenir y tratar enfermedades o incrementar el tamaño de los animales. La mayoría de los antibióticos no son metabolizados completamente por humanos y animales, por lo que del 25 al 75% del compuesto pasa al ambiente a través de las excretas, además llegan al suelo por los animales de pastoreo o el estiércol utilizado como fertilizante, pudiendo llegar a los cuerpos de agua mediante el agua de lluvia. Debido a la persistencia y naturaleza química de los fármacos, no pueden ser tratados efectivamente como otros contaminantes y como resultado se acumulan dentro de los sistemas acuáticos, son potencialmente tóxicos para los organismos acuáticos⁵.

Aunque la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS) es uno de los métodos más comúnmente aplicados para la determinación de compuestos farmacéuticos y sus productos de degradación en

las muestras acuosas, las técnicas que requieran menos separaciones y pasos de limpieza previos de la muestra, minimizando el uso de solventes orgánicos son de gran interés, tal es el caso de la espectrofotometría de fluorescencia, la cual se ha demostrado que podría utilizarse para la evaluación de la calidad de las aguas residuales. La fluorescencia es la liberación de energía en forma de luz cuando moléculas llamadas fluoróforos se excitan con una fuente de luz de alta energía⁶. Y aunque esta técnica no cuenta con la selectividad de la cromatografía líquida, el uso de la espectrofotometría de fluorescencia podría ayudar a definir condiciones para análisis posteriores, iniciar acciones correctivas inmediatas en caso de contaminación, reducir costos y tiempo asociados con enfoques analíticos complejos.

TEORÍA

La fluorescencia es uno de los fenómenos luminiscentes que tienen lugar con ciertos átomos y moléculas capaces de absorber radiación de cierta longitud de onda para, posteriormente, emitir radiación a una longitud de onda mayor. Cuando el analito absorbe radiación experimenta una “transición” a un estado electrónico de mayor energía o estado excitado. Desde ese estado las moléculas vuelven a su estado fundamental y pueden hacerlo de diversas maneras. Dos de las posibles formas de hacerlo implican emisión de fotones: fluorescencia y fosforescencia⁷.

La fluorescencia permite realizar determinaciones analíticas con cierto grado de selectividad y límites de detección bastante más bajos que los métodos basados en absorción. Sus límites de detección, dependiendo del compuesto que se trate y la potencia de la fuente empleada, pueden ir desde ppm hasta ppb y en algunos casos hasta ppt. La potencia de la emisión fluorescente es directamente proporcional a la concentración de analito, lo cual permite que su utilización con fines analíticos; pero también depende del tipo de analito y de factores instrumentales. La naturaleza química del analito determina que éste tenga mayor o menor capacidad (eficiencia) para absorber radiación de determinada longitud de onda y emitirla como radiación fluorescente. Respecto de los factores instrumentales, para una misma eficiencia de fluorescencia, a mayor potencia de luz incidente mayor será la potencia de fluorescencia⁸.

La espectrofotometría de fluorescencia ha demostrado ser una valiosa técnica para caracterizar y monitorear aguas residuales rastreando fuentes de contaminación en la región UV-Visible. Puede usarse para realizar las mediciones directamente en una matriz, con características favorables de simplicidad, sensibilidad, robustez, selectividad, rapidez, etc⁹. Esta técnica se utiliza para detectar la presencia de una sustancia o una clase de sustancias de interés con gran especificidad. En la Tabla 1 se muestran ejemplos de estudios realizados para la determinación de fármacos en diferentes matrices, utilizando esta técnica.

Tabla 1: Contaminantes emergentes que han sido detectados por fluorescencia

Compuesto	Método/condiciones de detección	de	Concentraciones encontradas
Ofloxacino aguas superficiales ¹⁰	en $\lambda_{excitación}=290\text{ nm}$ $\lambda_{emisión}=500\text{ nm}$		0.31 – 120 ppb
Sulfonamidas leche ¹¹	en $\lambda_{excitación}=390\text{ nm}$ $\lambda_{emisión}=480\text{ nm}$		30-210 ppb

PARTE EXPERIMENTAL

Se realizaron muestreos en granjas porcícolas cercanas a la ciudad de Mérida, Yucatán, fueron tomados 1 L de agua residual del cárcamo de bombeo, almacenando la muestra en vidrio ámbar y preservada a 4°C hasta el momento de su análisis, sin dejar pasar más de 24 h. Las pruebas fueron realizadas en un equipo Lumina Fluorescence Spectrometer, marca Thermo Scientific que se encuentra en el Laboratorio de nano y biomateriales del CINVESTAV, Unidad Mérida.

Primero se realizaron curvas de calibración para 3 antibióticos enrofloxacina, oxitetraciclina y sulfametoxazol (Sigma-Aldrich). Se prepararon soluciones madre de dichos compuestos disueltos en etanol grado espectrofotometría UV (Merck), Las curvas fueron elaboradas en un rango de 0 a 1.48 ppm para oxitetraciclina y enrofloxacina y de 0 a 14.8 ppm para sulfametoxazol, utilizando como blanco solución etanol/agua 50%, las

lecturas se realizaron utilizando una celda de poliestireno de 10x10x45 mm, de acuerdo con los parámetros mostradas en la Tabla 2.

Tabla 2: Longitudes de onda de excitación y emisión para los fármacos seleccionados.

Fármaco	λ excitación (nm)	λ emisión (nm)
Oxitetraciclina	390	512
Sulfametoxazol	300	381
Enrofloxacina	320	448

Posteriormente se analizaron las muestras del influente de agua residual y efluente de sistemas de tratamiento de tres granjas porcícolas, donde se administran estos antibióticos para la prevención y tratamiento de enfermedades diarreicas y como promotores de crecimiento, previo a su análisis y debido a la alta concentración de materia orgánica, el agua residual pasó por varios procesos de filtración que incluían filtros para café, papel filtro comercial y papel filtro No. 2 (Whatman) con retención de partículas de 8 μ m, las lecturas de muestras se realizaron según las condiciones descritas anteriormente para cada antibiótico.

Finalmente se llevó a cabo la validación del método, la linealidad de la curva de calibración se determinó utilizando seis concentraciones para cada antibiótico, con un total de nueve lecturas para cada muestra, medidas en las longitudes de onda de emisión y excitación correspondientes; aplicando el método de regresión lineal y calculando el coeficiente de correlación e la ecuación de la recta, además se utilizó el método descrito por EURACHEM de la Comisión Europea para determinar el límite de detección y el límite de cuantificación¹².

RESULTADOS

En la Tabla 3 se presentan los resultados de los análisis realizados para las muestras de agua residual provenientes del cárcamo de recepción, a la entrada del sistema de tratamiento instalado en las granjas.

Tabla 3: Concentraciones de antibióticos en el afluente

Fármaco/Granja	Granja A	Granja B	Granja C
Oxitetraciclina	1.337	0.532	0.725
Sulfametoxazol	3.966	12.778	14.174
Enrofloxacina	0.186	0.043	0.033

*Valores en ppm

Además, se analizaron las muestras de la salida del tratamiento para el agua residual de la granja, que consiste en un biodigestor anaerobio, como se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4: Concentraciones de antibióticos en el efluente

Fármaco/Granja	Granja A	Granja B	Granja C
Oxitetraciclina	0.140	0.255	11.673
Sulfametoxazol	0.035	0.323	2.324

Enrofloxacin 0.186 0.043 0.033

*Valores en ppm

Las curvas de calibración para la validación del método para cada uno de los fármacos se muestran en las Figuras 1 a la 3, también se muestran los coeficientes de correlación $R^2 \geq 0.99$ para cada uno de los analitos analizados, con lo cual se confirma la linealidad del método y determina la región de la curva en que hay relación directa entre la señal instrumental y la concentración del producto.

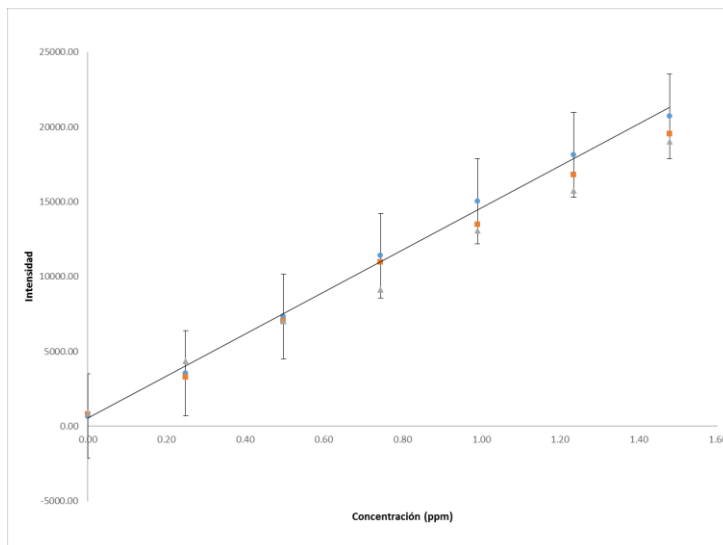


Fig. 1: Curva de calibración para linealidad de enrofloxacin, $R^2=0.9964$

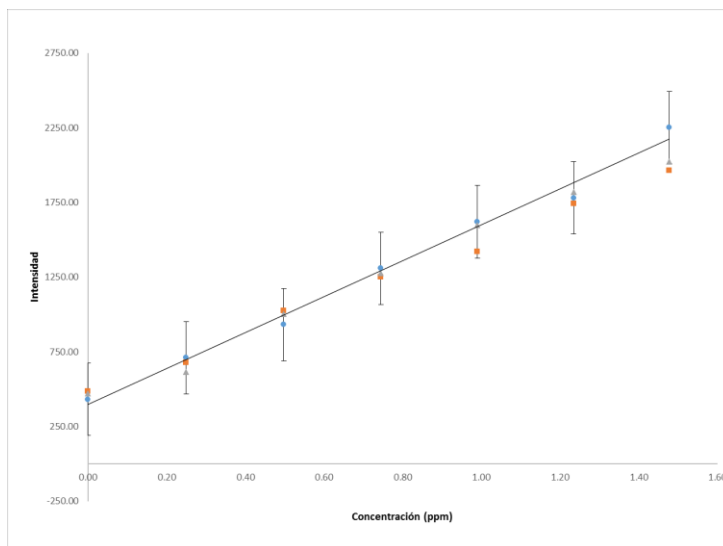


Fig. 2: Curva de calibración para linealidad de oxitetraciclina, $R^2=0.9908$

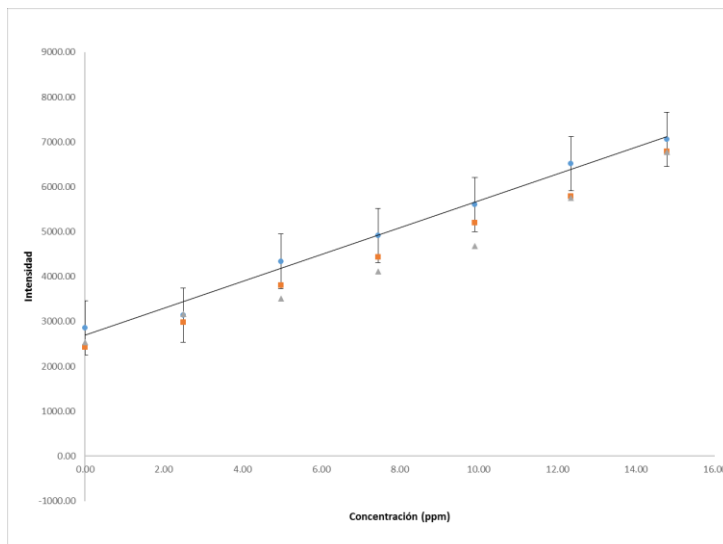


Fig. 3: Curva de calibración para linealidad de sulfametoxazol, $R^2=0.99$

Finalmente, en la Tabla 5 se muestran los límites en ppm cada compuesto, los cuales corresponden a las concentraciones mínimas que el método puede detectar y cuantificar sin exactitud y precisión

Tabla 5: Límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) para cada antibiótico analizado en ppm

Fármaco	LOD	LOQ
Oxitetraciclina	0.1486	0.4503
Sulfametoxazol	2.5319	7.6725
Enrofloxacina	0.1330	0.4030

CONCLUSIONES

Las concentración de fármacos comúnmente encontrada en aguas residuales municipales está en el rango de ppb o ppt, podría considerarse que las concentraciones en aguas porcícolas son mayores, debido al suministro de aditivos, como antibióticos y promotores del crecimiento que se incluyen en las dietas pero que su uso no se encuentra totalmente sustentado, así como también por la alta y concentración de excretas y su frecuente recarga, así como una menor dilución del agua residual porcícola, en comparación con el agua residual municipal.

En las aguas residuales de granjas porcinas se presenta una alta variación en la concentración de contaminantes dependiendo del proceso productivo (maternidad, destete, engorda, mezcla, ciclo completo), tamaño de la granja y manejo del agua.

Para resultados con mayor exactitud y precisión, así como límites de detección y cuantificación más bajos, se sugiere realizar análisis con técnicas más específicas como la cromatografía líquida de alta eficiencia y la cromatografía líquida acoplada a espectrofotometría de masas, ya que ofrece una mayor variedad de fases estacionarias, lo que permite una mayor gama de interacciones selectivas y más posibilidades para la separación.

Se utilizó la espectrofotometría de fluorescencia como técnica de detección, a pesar de no ser una técnica tan sensible y específica como la cromatografía líquida, pero debido a la rapidez de las pruebas y a la menor generación de residuos, se sugieren como método de escaneo que ayude a definir condiciones en análisis posteriores o para la toma de acciones inmediata ante la contaminación.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 SAGARPA (2009). Situación actual y perspectiva de la producción de carne de porcino en México. Publicaciones Ganadería.
- 2 Drucker, A., Escalante, R., Gómez, V., & Magaña, S. (2003). La industria porcina en Yucatán: Un análisis de la generación de aguas residuales. *Problemas del Desarrollo: Revista Latinoamericana de Economía*, 34(135), 106-124.
- 3 Arcega-Cabrera, F., Velázquez-Tavera, N., Fargher, L., Derrien, M., & Noreña-Barroso, E. (2014). Fecal sterols, seasonal variability, and probable sources along the ring of cenotes, Yucatán, Mexico. *Journal of Contaminant Hydrology*, 41-49.
- 4 Gil, M., Soto, A., Usmo, J., & Gutiérrez, O. (2012). Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. *Producción+Limpia*, 7(2), 52-57.
- 5 Richardson, S. (2007). Water Analysis: Emerging Contaminants and Current Issues. *Analytical Chemistry*, 79(12), 4295-4324.
- 6 Reynolds, D., 2014. In: Coble, P.G., Lead, J., Baker, A., Reynolds, D.M., Spencer, R.G.M. (Eds.), *Aquatic Organic Matter Fluorescence*. Cambridge University Press, NY, USA, 3-35.
- 7 Ellis, D. W., 1966. Luminescence instrumentation and experimental details. En: Hercules, D. (Ed.), *Fluorescence and phosphorescence analysis principles and applications*. Interscience Publ., USA, pp. 41-79.
- 8 Martínez, M., & Moctezuma, C. (2006). Espectrofluorimetría, en *Métodos fisicoquímicos en biotecnología*. Instituto de Biotecnología UNAM, disponible en:
<http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/espectrofluorimetria.pdf>
- 9 Moreira, A. B., Oliveira, H. P. M., Atvars, T. D. Z., Dias, I. L. T., Neto, G. O., Zagatto, E. A. G., & Kubota, L. T. (2005). Direct determination of paracetamol in powdered pharmaceutical samples by fluorescence spectroscopy, 539, 257–261.
- 10 Hurtado-sánchez, M. C., Valeria, A., Rodríguez-cáceres, M. I., & Escandar, G. M. (2014). Manuscrito Aceptado *Talanta*.
- 11 Rodríguez, N., Ortiz, M. C., Sarabia, L. A., & Herrero, A. (2010). *Analytica Chimica Acta* A multivariate multianalyte screening method for sulfonamides in milk based on front-face fluorescence spectroscopy, 657, 136–146.
- 12 European Commission, Decision 202/657/EC, implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results.

EVALUACIÓN DE PARÁMETROS QUÍMICOS EN CREMAS DE LECHE

Juan Antonio Rodríguez Arzave, Lylia Graciela Miranda Velásquez, Martha Patricia Rodríguez Magaña, Luis Fernando López Salazar

Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. E-mail: jarzave@hotmail.com

RESUMEN

La crema es la sustancia grasa recuperable de la superficie de la leche recién ordeñada cuando se deja en reposo y en estado natural. Por su consistencia espesa y sabor agradable a los sentidos, así como, una tonalidad blanca o amarillenta suele ser un ingrediente muy apreciado en la gastronomía nacional e internacional. Su aporte calórico es elevado debido al alto índice de proteínas, lactosa y grasas saturadas. Sus características y calidad están vinculadas estrechamente al contenido de grasa. En esta investigación se analizaron 6 cremas comerciales de mayor consumo en el área metropolitana de Monterrey, tres regulares y tres light, con la finalidad de conocer sus parámetros químicos como pH, Acidez titulable e Índice de peróxidos; aplicando en cada caso la metodología señalada en la normatividad mexicana. Las muestras presentaron valores de pH que variaron en un intervalo entre 4.37 a 6.64. Dos de las cremas estudiadas mostraron un Índice de acidez menor al límite de 0.5% de ácido láctico establecido en la norma, mientras que las demás registraron valores entre 0.61% a 0.85%. Sólo en una de las cremas se detectaron peróxidos con un Índice de 2.21 miliequivalentes de O_2/kg de crema. Los resultados encontrados para las variables analizadas reflejan que, cuatro de las seis cremas comerciales cumplen con lo especificado en la normatividad vigente respecto al criterio de Acidez titulable, además, sólo una de ellas ha iniciado el proceso de oxidación de las grasas conocido como rancidez.

INTRODUCCIÓN

Debido al aporte de proteínas, grasa y elementos minerales, la leche es considerada como un alimento natural casi completo (Enb *et al.*, 2009; Gasmalla *et al.*, 2013), tanto la leche como sus productos derivados son los principales constituyentes de la dieta diaria para grupos vulnerables como infantes, escolares y personas de la tercera edad; por su alto valor nutritivo se le ha definido como el “alimento natural casi perfecto” (Gemechu *et al.*, 2015; Kajal *et al.* 2012).

En los diferentes países del mundo la leche es utilizada como base para la fabricación de una gran variedad de productos lácteos (Uddin *et al.*, 2013) como son las leches fermentadas, leches concentradas, leche en polvo, productos desecados por calor, productos ácidos coagulados por calor y otros productos derivados ricos en grasa como la mantequilla, helados, cajeta, chongos zamoranos y la crema (Badui-Dergal, 2015; Mehta, 2015). La crema y la mantequilla están constituidas principalmente por grasa y otros componentes menores como agua, minerales, vitaminas y enzimas; la materia grasa incluye ácidos grasos saturados e insaturados, triglicéridos y colesterol (Kwak *et al.*, 2013); por lo cual, su consumo debe ser moderado ya que las altas ingestas de ácidos grasos saturados se asocian directamente con un aumento en los niveles de colesterol plasmático y mortalidad por enfermedades cardiovasculares (Torrejón y Uauy, 2011).

En el año 2014, durante la celebración del Día Mundial de la Leche, se informó que México ocupó el lugar número 20 a nivel mundial y el segundo de América Latina en consumo de productos lácteos líquidos con una ingesta de 53.9 litros por persona durante el año 2013. Sin embargo, el consumo total de lácteos en sus diferentes presentaciones ascendió sólo a 134 litros por persona al año, valor que está por debajo de los 170 litros per cápita recomendado por la FAO (Redacción Énfasis Packaging, 2014).

La crema de la leche es la sustancia grasa que se recupera de la superficie de la leche recién ordeñada cuando se deja en reposo y en estado natural (Hart y Fisher, 1991). Por su consistencia espesa, tonalidad blanca o amarillenta y sabor delicioso, suele ser un ingrediente muy apreciado en la gastronomía nacional e internacional; sin embargo, es un alimento con muchas calorías lo que la hace inadecuada para personas que cuidan su dieta.

Las características y calidad de la crema láctea están vinculadas estrechamente al contenido de grasa (Fox y Cameron, 2007; Milke García, 2011). De acuerdo a la legislación mexicana, la crema debe cumplir con un porcentaje mínimo de grasa butírica entre 25.0 y 29.9%, un 1.8% de proteína (NOM-193-SCFI-2014), así como tener una acidez titulable no menor a 0.5% expresada como ácido láctico (NOM-243-SSA1-2010).

En la actualidad los consumidores demandan leche y productos lácteos seguros y de alta calidad, por lo que los productores de la industria lechera, se han visto obligados a tomar las medidas necesarias para poner en el mercado productos que cumplan con dichas demandas (Gemechu, et al, 2015). No obstante, algunos productos como las cremas durante la vida en anaquel pueden sufrir alteraciones en sus propiedades debido a diversos factores, entre ellos, el manejo inadecuado o control inapropiado de la temperatura de almacenamiento lo que ocasiona un deterioro en la calidad y reducción en la vida útil. Por tal motivo, esta investigación fue emprendida para determinar ciertos parámetros químicos como son el pH, Acidez titulable e Índice de peróxidos, exhibidos por cremas de leche que se comercializan en el área metropolitana de Monterrey y con esta información conocer el estado de calidad de dichos productos.

PARTE EXPERIMENTAL

Muestra de trabajo

La muestra de estudio estuvo integrada por seis cremas de leche comerciales, tres regulares y tres light, las cuales se recolectaron mediante un muestreo aleatorio en tiendas de autoservicio localizadas en las ciudades de Monterrey y San Nicolás de los Garza, Nuevo León. Las cremas regulares que se adquirieron fueron: Norteña en frasco de vidrio de 450 mL, Lala en tazón plástico de 450 mL y Crema Alpura Premium en tazón plástico de 900 mL. Las tres cremas light se consiguieron en recipientes de plástico con contenido de 450 mL y correspondieron a las marcas Lala, Alpura reducida en grasa y crema ligera ácida Hill Country Fare. Las muestras fueron mantenidas bajo refrigeración a 4°C.

Determinación potenciométrica del pH.

El pH de las cremas se determinó conforme lo señala la norma mexicana NMX-F-317-S-1978, para ello en un vaso de precipitados de 250 mL se pesaron 100 gramos de la muestra con precisión de 0.01 gramos, usando una balanza granataria, digital traveler Ohaus modelo TA302. Luego, se añadieron 20 mL de agua destilada hervida y fría, la mezcla se homogenizó mediante agitación con una varilla de vidrio y se distribuyó en 6 vasos redondos de plástico desechables No. 0. El pH se determinó mediante el empleo de un medidor de pH de mesa, digital marca Science Med, modelo SM-3BW, Finlandia, equipado con un electrodo de vidrio combinado; el cual fue calibrado con soluciones amortiguadoras de pH 4.0 y 7.0, mostrando un slope de 0.97. Se registró el pH promedio de las seis repeticiones.

Método para la Determinación de la Acidez Titulable.

La Acidez Titulable (AT) de las cremas se determinó conforme al método establecido en la norma mexicana NOM-243-SSA1-2010, Apéndice Normativo B, numeral B.21. Para ello, en un matraz Erlenmeyer de 250 mL se pesaron 18 gramos de la muestra con precisión de 0.0001 gramos, usando una balanza analítica Velab VE-204. Enseguida, se añadieron 50 mL de agua destilada hervida y fría usando una probeta graduada Pyrex® de 100 mL, la mezcla se agitó manualmente hasta disponer de una suspensión homogénea. En ese momento se adicionó 1 mL de solución indicadora de Fenolftaleína al 1 % p/v en etanol, utilizando una pipeta serológica Pyrex con capacidad de 1 mL. Se depositó en el interior del matraz una barra magnética de 39 x 7 mm y el frasco se colocó sobre una base magnética Thermo Scientific/Cimarec®, la agitación se encendió manteniéndose a una velocidad moderada. Enseguida, la mezcla homogénea se tituló frente a una solución estandarizada de Hidróxido de sodio 0.1 N dispuesta en una bureta Kimax® de 25 mL con llave de teflón; en la proximidad del punto de equivalencia el matraz se agitó manualmente, en forma vigorosa y el punto final de la titulación se estableció cuando se observó el vire al color rosa tenue dado por la fenolftaleína y éste se mantuvo durante un minuto. Para cada muestra se realizaron 7 repeticiones.

La Acidez Titulable expresada como % de ácido láctico se calculó aplicando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Acidez (expresada como ácido láctico)} = \frac{V \times N \times 9}{M} \quad (1)$$

Donde:

V: mililitros de la solución de NaOH 0.1N, gastados en la titulación de la muestra

N: Normalidad de la solución de NaOH utilizada en la titulación de la muestra

9: factor

M: masa de la muestra en gramos

Método para la Determinación de Índice de Peróxidos.

El Índice de Peróxidos de las cremas se determinó de acuerdo al procedimiento señalado en la norma mexicana NMX-F-154-1987. Para ello, en un matraz Erlenmeyer de 250 mL se pesaron 5 gramos de la muestra con precisión de 0.01 gramos, usando una balanza granataria, digital traveler Ohaus modelo TA302. Luego, se añadieron 30 mL de una solución de ácido acético-cloroformo en proporción 3:2 y se agitó manualmente hasta la disolución completa de la muestra. Con una pipeta Transferpette® S marca Brand se adicionaron 500 µL (0.5 mL) de solución saturada de yoduro de potasio. La solución se mantuvo en reposo durante 1 minuto, agitando vigorosamente por lo menos 3 veces durante el minuto. Al término de dicho lapso, se agregaron 30 mL de agua hervida y fría usando una probeta graduada Pyrex® de 100 mL y 1 mL de solución indicadora de almidón al 1% p/v utilizando una pipeta serológica Pyrex con capacidad de 2 mL. El matraz se agitó vigorosamente y luego se depositó en su interior una barra magnética de 39 x 7 mm, el frasco se colocó sobre una base magnética Thermo Scientific/Cimarec®, la agitación se encendió manteniéndose a una velocidad moderada. Enseguida, la mezcla homogénea se tituló frente a una solución estandarizada de Tiosulfato de sodio 0.01 N dispuesta en una bureta Kimax® de 25 mL con llave de teflón, en la proximidad del punto de equivalencia el matraz se agitó manualmente, en forma vigorosa y el punto final de la titulación se estableció cuando se observó el vire del color azul al blanco y éste se mantuvo durante un minuto. Se corrió un blanco sometiendo 30 mL de la solución ácido acético-cloroformo en proporción 3:2 al procedimiento descrito.

Para cada muestra se realizaron 7 repeticiones.

El Índice de peróxido expresado como los miliequivalentes de peróxido contenidos en un kilogramo de muestra se calculó mediante la aplicación de la siguiente fórmula:

$$I.P. = \frac{(A - A_1) \times N \times 1,000}{M} \quad (2)$$

Donde:

A: mililitros de la solución de tiosulfato de sodio gastados en la titulación de la muestra

A₁ : mililitros de la solución de tiosulfato de sodio gastados en la titulación del blanco

N: normalidad de la solución de tiosulfato de sodio

M: masa de la muestra en gramos

RESULTADOS

En México durante el año 2013 se registró un consumo total de lácteos de 134 litros por persona al año, esto es, tomando en consideración las distintas presentaciones como quesos, yogurt, helados, repostería, confitería y crema entre otros; este dato ha colocado a nuestro país en el lugar número dos en Latinoamérica y en la posición 20 a nivel mundial respecto al consumo de lácteos.

La crema, también conocida como nata, es una parte aislada de la leche que se caracteriza por su alto contenido de grasa. Como ocurre con cualquier alimento graso, debido a su envejecimiento sufren deterioro por acción microbiana, actividad de enzimas o por efecto de la temperatura, aire, o luz, liberando ácidos grasos que modifican las cualidades del producto. En esta investigación se determinaron ciertos parámetros analíticos de seis cremas lácteas como son su pH, Acidez titulable e Índice de peróxidos con la finalidad de conocer el estado del alimento al momento de su compra.

La estadística descriptiva de los datos obtenidos se presenta en la Tabla I, en ella se observa que el pH varió entre 4.37 para la crema de la marca Lala light hasta 6.64 para la crema Lala. El análisis de varianza (ANOVA)

aplicado a estos datos reveló una alta diferencia significativa ($F=4,480.49$, $p<0.01$) entre los pH exhibidos por las cremas. La prueba de Tukey señaló que sólo las cremas Lala light y Alpura no son estadísticamente diferentes ($p>0.05$). En un estudio realizado en Venezuela con cremas de cinco marcas comerciales diferentes, se encontró que el pH varió entre 5.10 y 5.70 (Pacheco *et al*, 2008); en otra investigación llevada a cabo en Francia se encontró que las cremas de leche analizadas mostraron un pH promedio de 6.78 (Gassi *et al*, 2008); mientras que, en un estudio realizado en Egipto se observó que la crema de leche de vaca mostró un pH de 6.70 y la crema obtenida de leche de búfala exhibió un pH de 6.50 (Enb, *et al*, 2009). El pH no es un criterio de calidad requerido por la legislación mexicana para dicho producto.

Tabla I. Estadística descriptiva para parámetros químicos determinados a seis cremas de leche

Crema	pH			Acidez titulable (% de Ácido láctico)			Índice de peróxidos ^b (meq de peróxido/kg)
	Promedio ^a	Desviación estándar	Coficiente de variación	Promedio ^b	Desviación estándar	Coficiente de variación	
Alpura	4.41	0.03	0.70	0.61	0.03	4.59	0
Lala	6.64	0.05	0.75	0.11	0.003	3.04	0
Norteñita	6.34	0.05	0.78	0.19	0.005	2.72	2.21 ± 0.34
Alpura light	4.73	0.06	1.20	0.70	0.005	0.74	0
Hill Country light	4.49	0.03	0.72	0.72	0.004	0.55	0
Lala light	4.37	0.008	0.19	0.85	0.006	0.64	0

^a,n=6 ^b,n=7

Respecto a la determinación de Acidez titulable expresada como % p/p de Ácido láctico, se encontró que las 6 cremas analizadas mostraron valores que fluctuaron entre 0.11% y 0.85%. De acuerdo a lo establecido en la normatividad mexicana, la acidez no debe ser menor a 0.5%; por consiguiente, las cremas de las marcas Alpura, Alpura light, Hill Country Light y Lala light cumplen con dicho criterio de calidad, en tanto que, las marcas Lala y Norteñita no lo cumplen. El análisis de varianza (ANOVA) aplicado a estos datos indicó una alta diferencia significativa ($F=4,603.405$, $p<0.01$) entre la Acidez titulable exhibida por las cremas. La prueba de Tukey señaló que sólo las cremas Alpura light y Hill Country light no presentan diferencia significativa ($p>0.05$). En cremas analizadas en Venezuela se observó que su acidez varió entre 0.29% y 0.85% (Pacheco *et al*, 2008); por otra parte, un grupo de investigadores egipcios informó que la crema de leche de vaca analizada por ellos, mostró valores de acidez de 0.19% mientras que la crema de leche de búfala reveló valores de 0.20% (Enb *et al*, 2009). La acidez de la crema es un reflejo del contenido de ácido láctico, caseína, anhídrido carbónico y otros constituyentes acídicos y guarda una relación inversamente proporcional con el contenido de grasa, en este contexto se deduce que las cremas Lala y Norteñita contienen una alta proporción de grasa debido a su bajo nivel de acidez. Además, se conoce que, a mayor acidez de la crema su espesor se incrementa; por ello, las cremas señaladas son líquidas mientras que el resto de las muestras analizadas exhiben una mayor consistencia.

Por otra parte, se ha informado que la leche en polvo y la crema, por su alto tenor graso, son susceptibles a sufrir lipólisis, es decir, la degradación hidrolítica de sus acilglicéridos con liberación de los ácidos grasos constituyentes (Páez *et al*, 2009). Esta transformación química ocasiona un incremento en el nivel de acidez y el desarrollo de rancidez en los productos lácteos, deteriorando la calidad de tales alimentos. Los ácidos grasos insaturados tienen la propiedad de reaccionar con el oxígeno, adicionando los átomos de dicho gas a las dobles ligaduras, generando peróxidos altamente reactivos que pueden ser estimados cuantitativamente mediante yodometría. El nivel de peróxidos en un alimento suele estar relacionado con el grado de autooxidación y el nivel de rancidez (Tello-Santillán, *et al*, 2010); en esta investigación, se encontró que de las seis cremas analizadas, sólo la marca Norteñita exhibió un Índice de peróxidos de 2.21 miliequivalentes de peróxido/kg de crema, revelando que, durante su estancia en anaquel ha entrado en un proceso inicial de rancidez, sin que esto haya alterado aun sus propiedades organolépticas.

CONCLUSIONES

En este estudio seis muestras de cremas comerciales para consumo directo fueron analizadas químicamente determinando su pH, Acidez titulable e Índice de peróxidos con la finalidad de conocer la calidad que exhiben al momento de su compra. Se encontró que el pH de las muestras fluctuó en un rango comprendido entre 4.37 y 6.64. Respecto a la Acidez titulable se observó que sólo las cremas de las marcas Lala y Norteñita no cumplen con lo establecido por la legislación mexicana, dado que su nivel de Acidez fue menor a 0.5 gramos de ácido láctico/100 gramos de crema. En cuanto al Índice de peróxidos, sólo la crema Norteñita mostró un valor 2.21 miliequivalentes de O₂/kg de crema, revelando que este producto lácteo se encuentra en un proceso de autooxidación el cual no ha afectado aún sus atributos organolépticos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Badui-Dergal, S. (2015). *La Ciencia de los alimentos en la Práctica*. México: Pearson Educación.
2. Enb, A., Abou Donia, M.A., Abd-Rabou, N.S., Abou-Arab, A.A.K. and El-Senaity, M.H. (2009). Chemical Composition of Raw Milk and Heavy Metals Behavior During Processing of Milk Products. *Global Veterinaria*. 3(3):268-275.
3. Fox, B. A., Cameron, A. G., (2007), *Ciencia de los Alimentos, Nutrición y Salud*. México, D.F. México: Editorial Limusa, S.A. de C.V.
4. Gasmalla, M.A.A., Khadir, K.E., Musa, A., Aboshora, W. and Zhao, W. (2013). Evaluation of some physicochemical parameters of three comercial milk products. *Pakistan Journal of Food Sciences*. 23(2): 62-65.
5. Gemechu, T., Beyene, F. and Eshu, M. (2015). Physical and chemical quality of raw cow's milk produced and marketed in Shashemene Town, Southern Ethiopia. *Journal of Food and Agricultural Science*. 5(2):7-13.
6. Hart, F.L., Fisher, H. J., (1991). *Análisis Moderno de los Alimentos*. Zaragoza, España: Editorial Acribia.
7. Kajal, M.F.I., Wadud, A., Islam, M.N. and Sarma, P.K. (2012). Evaluation of some chemical parameters of powder milk available in Mymensingh town. *Journal of the Bangladesh Agricultural University*. 10(1):95-100.
8. Kwak, H. S, Ganesan, P. and Al Mijan, M. Butter, Ghee, and Cream Products. En Y.W. Park y G.F.W. Haenlein (Eds.), *Milk and Dairy Products in Human Nutrition. Production, Composition and Health*. (pp. 390-411). West Sussex, UK: Wiley-Blackwell.
9. Mehta, B.M. (2015). Chemical Composition of Milk and Milk Products. En P.C.K. Cheung y B.M. Mehta (Eds.), *Handbook of Food Chemistry* (pp. 511-553). Heidelberg, Alemania: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
10. Milke García M. del P. (Ed.), (2011.). *El libro Blanco de la leche y los productos lácteos*. México, D.F. México: Canilec.
11. NMX-F-154-1987. Alimentos: Aceites y Grasas Vegetales o Animales. Determinación del Índice de Peróxido. Foods. Vegetables or Animals Oils and Fats. Peroxide Index Determination. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
12. NOM-243-SSA1-2010, Productos y Servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivado de lácteos. Disposiciones y Especificaciones Sanitarias. Métodos de prueba.
13. NOM-193-SCFI-2014, Crema-Denominaciones, especificaciones, información comercial y métodos de prueba.
14. Páez, R.B., Taverna, M.A., Cuatrin, A.L. y Costabel, L. (2009). Cambios en la concentración de ácidos grasos libres durante el proceso de elaboración de leche en polvo y crema. *Memorias de las Terceras Jornadas Internacionales de Calidad de Leche*. (pp. 251-252). Buenos Aires: Asociación Pro Calidad de la Leche.
15. Redacción Énfasis Packaging. (2014). México, segundo país en consumo de productos lácteos líquidos en América Latina. abril 25, 2017, de Packaging Revistas Énfasis Sitio web: <http://www.packaging.enfasis.com/notas/69775-mexico-segundo-pais-consumo-productos-lacteos-liquidados-america-latina>.

16. Tello-Santillán, R., Yahuaca-Juárez, B., y Martínez-Flores, H. E. (2010). Evaluación de la calidad oxidativa de tres aceites comerciales en condiciones de almacenamiento acelerado. *Memorias del XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. (pp.121 1 -121 8). Guanajuato, Gto: Universidad de Guanajuato.
17. Torrejon, C., Uauy, R. (2011). Calidad de grasa, arterioesclerosis y enfermedad coronaria: efectos de los ácidos grasos saturados y ácidos grasos trans. *Revista Médica de Chile*. 139:924-931.
18. Uddin, M.R., Mazed, M.A., Islam, M.S., Hassan, N. and Khan, M.A.S. (2013). Comparative Study on the Dahi-prepared from Whole Milk, Skim Milk, Reconstituted Milk and Recombined Milk. *Journal of Environmental Science and Natural Resources*. 6(1):261-266.

COMPARACIÓN DEL CICLO DE VIDA DE *SITOPHILUS ZEAMAI*S EN DISTINTOS TIPOS DE GRANOS ALMACENADOS

Luisa Fernanda Corona Valdés, María Azucena Márquez Lucio, Juan Gualberto Colli Mull y Francisco Alejo Iturvide

Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. fercorona_13@hotmail.com, fralejo@itesi.edu.mx

RESUMEN

En el estado de Guanajuato sellega a perder hasta el 21% de los granosen almacenes de los productores debido al ataque de plagas. *Sitophilus zeamais* es considerada la principal plaga del maíz y puede provocar alteraciones graves en la agricultura, ya que pueden no ser específico de un solo grano. En este trabajo se comparó el ciclo de vida de *S. Zeamais* en distintos tipos de granos almacenados como son el, maíz blanco, maíz prieto, maíz palomero y sorgo. Se colocaron diez parejas del gorgojo del maíz en frascos con 150gr de grano, la temperatura fue tomada diariamente con una humedad relativa de 50%. Los frascos fueron revisados consecutivamente para la observación de la aparición de cada una de las etapas cuantificando cada una de las etapas del ciclo de vida, se midieron y se tomaron fotografías con equipo y programa Motic y se comprobó que *Sitophilus zeamais* no es específico de un solo grano y quevaría su ciclo de vida, en progenie y mortalidad. Se observó que el sorgo es el grano en que mejor se reproduce éste insecto.

INTRODUCCION

La familia *Curculionidae* es la más importante y diversa del orden Coleóptera, dentro de esta familia se encuentra el género *Sitophilus*. En este género se encuentran algunas especies que son plagas comunes de los productos gramíneos almacenados. Las especies más notables incluyen el gorgojo de arroz (*S. oryzae*), gorgojo de trigo (*S. granarius*), y gorgojo del maíz (*S. zeamais*). Estas especies tienen una distribución casi cosmopolita, distribuyéndose en las partes más cálidas del mundo (Descamps *et al.*, 2002).

A la fecha se han registrado alrededor de 250 especies de insectos- plaga que afectan a productos almacenados de los cuales 20 son considerados de gran importancia. En laTabla 1 se enlistan las 12 especies más importantes en México (J. A. Corral, 2013).

Tabla 1. Insectos plaga de mayor importancia en México.

Nombre científico	Nombre común
<i>Sitophilus zeamais</i>	Picudo del maíz
<i>Sitophilus oryzae</i>	Picudo del arroz
<i>Prostephanus truncatus</i>	Barrenador grande de los granos
<i>Rhyzopertha dominica</i>	Barrenador pequeño de los granos
<i>Oryzaephilus surinamensis</i>	Gorgojo del tórax aserrado
<i>Tribolium castaneum</i>	Gorgojo castaño de la harina
<i>Tribolium confusum</i>	Gorgojo confuso de la harina
<i>Sitotroga cerealella</i>	Palomilla dorada del maíz
<i>Acanthoscelides obtectus</i>	Gorgojo del frijol
<i>Zabrotes subfasciatus</i>	Gorgojo pinto del frijol
<i>Cryptolestes pusillus</i>	Gorgojo plano de los granos
<i>Cryptolestes ferrugineus</i>	Gorgojo rojizo de los granos

En México se encuentra la mayor diversidad genética de maíz del mundo, considerándose así México el centro de origen del mismo, el cual tiene una importancia económica y como principal consumo humano, siendo Guanajuato es el principal productor de maíz y sorgo. En cuanto al sorgo, cabe decir que se utiliza principalmente en el sector agropecuario, y que éste juega un papel fundamental, aunque también actúa como sustituto del maíz (G. M. J. Manuel, 2012).

Los granos son atacados principalmente por insectos plaga y han sido un problema recurrente desde hace ya muchos años. Ramírez (1974) reportó pérdidas de 25% en los granos almacenados por los productores en México, y en las regiones tropicales alcanza hasta 50% (Rodríguez, 1990). En el estado de Guanajuato se pierde 21% de los granos en los almacenes de los productores (Aguilera, 1988).

Las plagas son capaces de infestar el maíz en cualquiera de las etapas del desarrollo y durante el almacenamiento o bien desde el campo. Atacan cualquier parte de la planta, principalmente al grano y se les asocia a enfermedades y otros riesgos sanitarios. El maíz almacenado es una fuente ideal de alimento para los insectos, que están adaptados a situaciones de confinamiento. Los insectos suelen tener distintos e importantes estados de desarrollo, dependiendo del tipo de metamorfosis (G. L. Espinosa *et al.*, 2007).

S. zeamais tiene un ciclo de vida completo es decir, son holometábolos y está dividido en 4 etapas: huevo, larva, pupa y adulto. Las hembras horadan los granos y depositan en cada diminuta perforación un huevecillo, que posteriormente es cubierto con una secreción, por lo que su presencia pasa inadvertida. Las larvas son ápodas y se alimentan principalmente del endospermo del grano, posteriormente son transformadas en pupas y finalmente en adultos, dentro del grano. Su ciclo de vida es de 4 a 5 meses y la temperatura óptima para su desarrollo es de 17 a 34° C con una humedad relativa de 70% (Dell'Orto T, 1985).

G. L. Espinosa *et al.*, (2007) consideran a las plagas primarias aquellos insectos que atacan el grano íntegro, sin daño previo, las cuales son más importantes durante el almacenamiento; sus fuentes de alimento son limitadas y mueren, cuando éstas se agotan o cuando las poblaciones alcanzan altos niveles. Los insectos de esta clase pueden sobrevivir en los residuos de grano dentro de la estructura de almacenamiento y en muchos casos los daños que provocan comienzan desde el cultivo en campo, antes del almacenamiento. Dentro del grupo de plagas primarias cita principalmente al gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*).

PARTE EXPERIMENTAL

Este trabajo se llevó a cabo en los meses de Abril-Septiembre del 2016 en las instalaciones del Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. Para la identificación de *Sitophilus zeamais* se tomó un carácter morfológico muy marcado como son cuatro marcas rojizas en los élitros. El macho del gorgojo del maíz es ligeramente más pequeño que la hembra, es decir, existe dimorfismo sexual en esta especie, aunque no fue el único carácter que se tomó en cuenta para la determinación del sexo. También se consideró el tamaño del aparato bucal, el cual es más pequeño en los machos que en las hembras. (Rodríguez Cobos y Lannacone, 2012). El grano usado para la reproducción fue esterilizado para asegurar la eliminación total de otros organismos vivos sin interés. En este estudio, pero asegurando la integridad del grano, se fusionaron dos metodologías. Viva y Estudillo (2006), sugieren que someter al grano con ondas electromagnéticas asegura la mortalidad total o parcial de microorganismos y Mahroof (2005) asegura la mortalidad total de las etapas del ciclo de vida de artrópodos, sometiendo al grano a temperaturas por arriba de los 55°C, en este caso se sometió el grano a una temperatura de 70°C, se seco a temperatura ambiente y posteriormente se sometió a ondas electromagnéticas por cinco minutos.

Se colocaron diez parejas de *Sitophilus zeamais* en frascos con 150 gr. de granos para garantizar su reproducción, los cuales fueron colocados a temperatura ambiente con una humedad controlada de 50%, estos parámetros fueron revisados diariamente. Posteriormente los frascos fueron revisados de igual manera cotidianamente para realizar el análisis de la aparición en días de cada una de las etapas del ciclo de vida, cuantificando mortalidad y prole de insectos.

Las etapas del ciclo de vida obtenidas se fijaron en alcohol al 70% en tubos de microcentrífuga de 1.5 ml, se midieron y se tomaron fotografías con el equipo y programa MotiClmages Plus 2.0, utilizando un microscopio estereoscópico a 35X.

RESULTADOS

Los adultos de *Sitophilus zeamais* son generalmente de color marrón rojizo brillante, la cabeza está proyectada en forma de trompa y las antenas acodadas en forma de maza. Los élitros presentan cuatro marcas pálidas de color naranja-rojizo, esta característica es diagnóstica de esta especie. El protórax está densamente cubierto de depresiones ovaladas y en la parte del abdomen se observan líneas verticales que cubren los élitros, como se muestra en la Figura 1.



Figura 1. Adulto de *Sitophilus zeamais*

Existe dimorfismo sexual entre hembra y macho. La hembra tiene un ovopositor a veces muy marcado (Figura 2A). El aparato bucal ligeramente más curvado en el macho y más pequeño (Figura 2B), por otro lado el aparato bucal de la hembra es ligeramente más grande. Los adultos obtenidos de *Sitophilus zeamais* en los frascos de maíz prieto, maíz palomero y maíz blanco no tuvieron diferencias en el tamaño. La hembra midió 4.2mm y su aparato bucal 0.9mm. En cuanto al macho, éste midió 3.8mm y su aparato bucal 0.6mm, mientras que los adultos obtenidos en el sorgo tuvieron diferencias en cuanto al tamaño, la hembra midió 4.0mm y su aparato bucal 0.7mm y en cuanto al macho este midió 3.1mm y su aparato bucal 0.4mm.

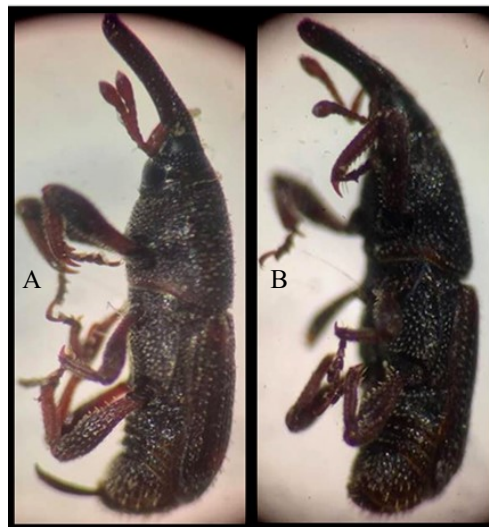
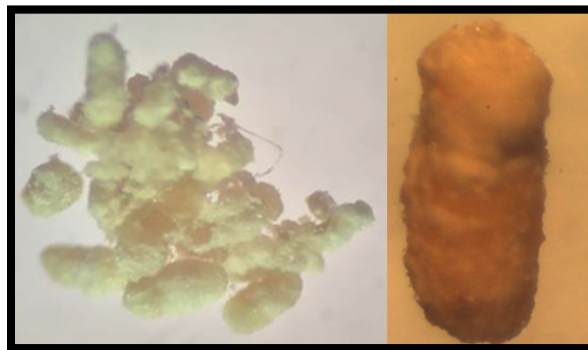


Figura 2. Sexado de *Sitophilus zeamais* A. Hembra B. Macho.

El ciclo de vida de *Sitophilus zeamais* se dividió en huevo, cuatro estadios larvales y pupa. El huevo es ovoide cubierto con una secreción para pasar desapercibido, de color crema- blanquecino, con 0.9mm de longitud véase Figura 3B. Los estadios larvales de color crema-cristalino fueron diferenciados por su crecimiento, los tamaños larvales fueron: larva uno 1.1mm, larva dos 2.3mm, larva tres 3.1mm y larva cuatro 4.0mm. Las larvas en todos sus estadios son ápodas y conforme a su crecimiento, su tórax es segmentado y su aparato bucal es desarrollado. A partir de la larva dos el aparato bucal es más definido y en la larva cuatro se observan protuberancias en la parte del protórax para posteriormente desarrollarse en apéndices locomotores véase Figura 4, el estado pupal es de tipo éxarate midiendo 4.1mm. Se observa el aparato bucal bien definido, las alas blandas, y la totalidad de su tórax y abdomen bien definido véase en la Figura 5.



A

B

Figura 3. A. Huevos de *Sitophilus zeamais*, B. Huevo cubierto de secreción blanquecina.

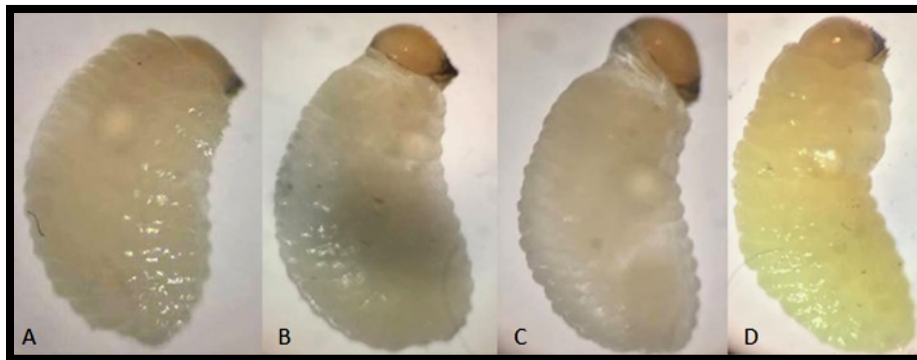


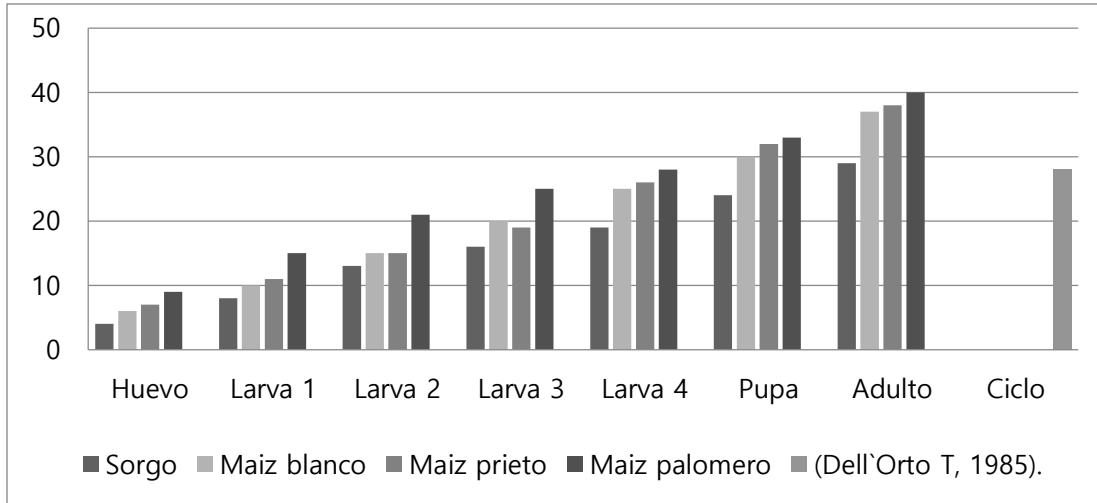
Figura 4. A. Estadios larvales de *Sitophilus zeamais*, A. Larva uno, B. Larva dos, C. Larva tres, D. Larva cuatro.



Figura 5. Pupa de *Sitophilus zeamais*, vista ventral.

En la Tabla 2, se observan las etapas graficadas conforme la aparición en días de cada una de ellas, en cuanto al ciclo de vida en sorgo fue finalizado a los 29 días, en maíz blanco el ciclo de vida fue finalizado a los 37 días, en maíz prieto el ciclo fue finalizado a los 38 días y en maíz palomero el ciclo fue finalizado a los 40 días. Dell'Orto T, (1985) evaluó el ciclo de vida de *Sitophilus zeamais* en maíz blanco bajo condiciones controladas donde cita que el ciclo finalizo a las 28 días, el ciclo de vida en sorgo fue el más acercado al del autor.

Tabla 2. Ciclo de vida de *Sitophilus zeamais* en distintos tipos de grano.



En cuanto a la progenie en maíz blanco se obtuvo un total de 31 insectos de los cuales predominaron las hembras con un total de 21 insectos y 10 machos, en cuando a la mortalidad fueron 6 insectos, en maíz prieto se obtuvo una mortalidad de dos insectos y una progenie de 11 gorgojos, cinco hembras y seis machos, y en maíz palomero no hubo mortalidad pero se obtuvo una progenie de 23 insectos, 12 hembras y 11 machos. En cuanto al sorgo se obtuvo una mayor mortalidad de insectos con un total de ocho muertos, pero una mayor progenie con 167 insectos vivos de los cuales predominaron los machos con un total de 88 y hembras 79, como se observa en la Tabla 3.

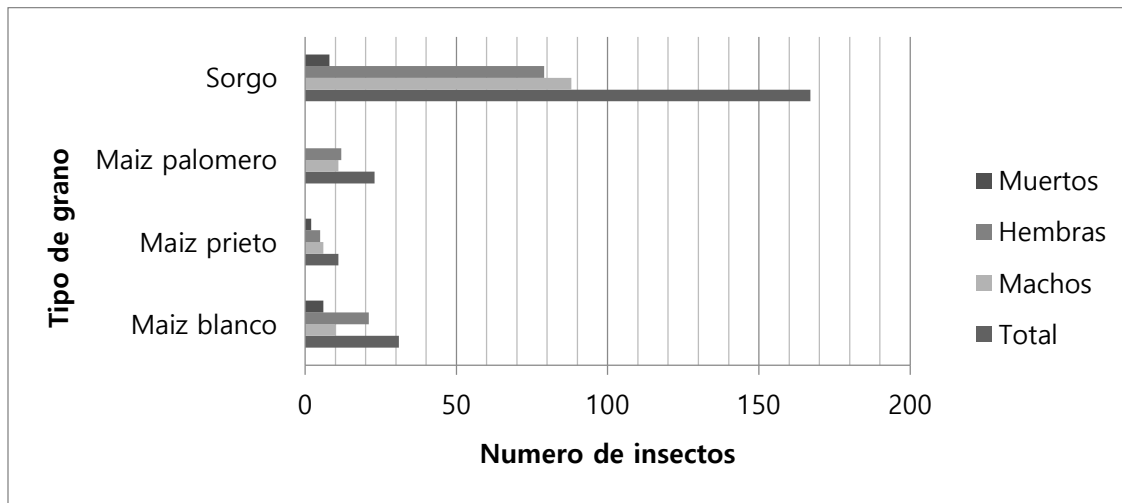


Tabla 3. Progenie y mortalidad de *Sitophilus zeamais* en distintos granos.

CONCLUSIONES

Los resultados mostraron una preferencia por el sorgo ya que fue el grano donde más progenie hubo y el ciclo de vida fue más rápido. Esto puede ser debido a la densidad de granos que hubo en los frascos o por el endospermo harinoso que posee. En cuanto al maíz blanco y maíz prieto el ciclo fue finalizado muy similar en tiempo, pero predominó la progenie en maíz blanco, en el maíz palomero fue el más tardado pero se obtuvo una mortalidad de cero insectos y un total de 23 insectos, dejando atrás a maíz prieto.

Se comprobó que *Sitophilus zeamais* no es específico de un solo grano pero que si varía su ciclo de vida, en progenie y mortalidad. Sorgo es el grano que puede ser el esencial para que este insecto se reproduzca con facilidad.

Se observó que en cuanto al tamaño final del adulto en sorgo era menor que en los demás granos, esto puede ser por el tamaño del grano o por la cantidad de azúcares o gluten en él.

Dell'Orto T., (1985) describió que el ciclo de vida de *Sitophilus zeamais* fue finalizado a los 28 días en maíz blanco en condiciones controladas, lo que hace al sorgo más cercano al resultado del autor.

Finalmente, es de suma importancia conocer las condiciones adecuadas para su reproducción, para entender las variables más importantes a considerar en el diseño y construcción de almacenes – graneros, así como en el desarrollo de estrategias de prevención y control, entre ellos la utilización de microorganismos entomopatógenos, entre otros.

BIBLIOGRAFIA

1. Aguilera, P. M., "Pérdidas causadas por insectos al maíz almacenado en Guanajuato", *In*: Primera Reunión Científica, Forestal y Agropecuaria, Guanajuato. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH), Centro de Investigación Forestal, Agrícola y Pecuaria (CIFAP). Guanajuato, Guanajuato, 1988, pp 24.
2. Dell'Orto T., "Insectos que dañan grano y productos almacenados" Oficina regional de la fao para América latina y el Caribe, Santiago, Chile, 1985, pp 58-62.
3. Descamps, L. Renée; F., Adriana A. "Factores que afectan el control de las plagas de los granos almacenados en el área de influencia del Puerto de Ingeniero White, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina", Universidad Nacional del Sur. Departamento de Agronomía, 2002, pp 12.
4. G. M. J. Manuel, "Situación actual y perspectivas del maíz en México 1996-2012", Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SAGARPA) México, 2012, pp 9-14.
5. G. L. Espinosa, C. E. Carrillo, D. J. Bergvinson, "Manual de plagas en granos almacenados y tecnologías alternativas para su manejo y control". Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), México, 2007, pp 9-11.
6. J. A. Corral, "Plagas de importancia económica en México: Aspectos de su biología y ecología", Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Libro Técnico Núm. 2, Jalisco, México, 2013, pp 340-345.
7. Mahroof, R., Subramanyam, B. Flinn P. "Reproductive Performance of *Tribolium castaneum* (coleoptera: Tenebrionidae) Exposed to the Minimum Heart Treatment Temperature as pupae and Adults". *Journal of economic Entomology*, 2005, pp 626-633.
8. Ramírez G., M., "Almacenamiento y conservación de granos y semillas". Ed. CECSA 2a. impresión. 1966. México, D. F., 1974, pp 300.
9. Rodríguez Cobos, A. y Lannacone J., "Resistencia de granos almacenados de cultivares de maíz amarillo duro a *Sitophilus zeamais* Monstchulsky 1855 (Coleoptera: *curculionidae*) en el Perú" *Revista peruana de entomología*, XLVII, Perú, 2012, pp 1-6.
10. Rodríguez R., R., "Perspectivas de la investigación entomológica de productos almacenados en la zona sur de México", XXV Congreso Nacional de Entomología, II Simposio Nacional, Entomología de productos almacenados. Perspectivas de la investigación en México. Ediciones Mexicanas de Post-cosecha Vol. II, Oaxaca, México, 1990, pp. 43-51.
11. Vivas L. E. y Astudillo D., "El control físico de las plagas agrícolas: métodos activos", *revista digital (CENIAP)*, 2006, pp 4-8.

DECONSTRUCCION AMBIENTAL EN LA REGION INDUSTRIAL TULA. UN ANALISIS DIACRONICO PARA LA REHABILITACION DE SITIOS SUMAMENTE DEGRADADOS.

Pedro Angeles Juárez, Minerva Leonor González Ibarra, Aida del Rosario Malpica Sánchez

Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco.

RESUMEN

Actualmente la región industrial Tula, es considerada como una de las regiones más contaminadas de México, ocasionada por el desagüe de aguas negras de la Ciudad de México, la refinación del petróleo, la producción de energía nuclear, la industria cementera y otros productos pétreos, es una zona de desastre ambiental. Para poder responder a las preguntas ¿Qué paso aquí? Y ¿Qué podemos hacer para restaurar estos sitios? En la interacción que une lo ecológico con lo social, recuperamos la base teórica – metodológica de los planteamientos propuestos por el MEA (2005) y TEEB (2010) documentos guía, que señalan la importancia de la estructura y funcionamiento de los ecosistemas a través de la prestación de servicios ambientales (Provisión, regulación, y socioculturales) en la utilidad y valoración que la sociedad pueda darle. Metodológicamente se realizó la deconstrucción histórico ambiental de un sitio ubicado en la región Tula mediante una serie de mapas del siglo XVI – XVIII, documentos que permiten la reconstrucción histórica del uso de la tierra (*land use / land cover*) en la búsqueda de indicios relacionados con la vegetación, el agua, los animales silvestres – domesticados y los recursos no bióticos, así como el acceso a los grupos humanos. Presentamos una secuencia de imágenes a partir de las cuales se desarrolla el trabajo de distinguir posibilidades y sus implicaciones dentro del estudio de los ecosistemas. Los resultados y conclusiones previas nos remiten a otro tiempo – espacio de paisajes transformados, provistos de mayor humedad, mayor vegetación, con bosques y cuerpos de agua que permitían la producción de alimentos. Ahora, con la industrialización la capacidad de recuperación de estos ecosistemas y los grupos sociales que ahí viven es incierta.

INTRODUCCION

El presente trabajo está centrado en la región sur este del estado de Hidalgo, en el espacio geográfico conocido como Valle del Mezquital, “El Mezquital” debe su nombre a la abundancia de mezquites y huizaches como se lo conoce desde el siglo XVI. Otro signo característico del Mezquital lo constituye la pobreza de sus habitantes indígenas y no indígenas; se trata de una región alta (ubicada entre los 2100 y 2300 m.s.n.m.) fría con heladas severas (de noviembre a febrero), con suelos pobres dedicados a la agricultura de subsistencia carentes de nutrientes y materia orgánica. La barrera natural de montañas que rodean el Mezquital propician que las lluvias sean escasas y a destiempo, los ojos de agua se han secado, de modo que la región sufre de estrés hídrico, empero, paradójicamente ríos hediondos provenientes de la Ciudad de México inundan sus tierras secas para convertirlas en inmensas estepas verdes productoras de chile verde, betabel, calabacitas, alfalfa y maíz forrajero, que son consumidos en la zona metropolitana de la Ciudad de México, en un ciclo intermitente de materia y energía. Por su ubicación dentro del Eje Neovolcánico se encuentra un sustrato de calizas de Cretácico Inferior, por ello los cerros y lomeríos son áridos, con pendientes pronunciadas, donde abundan las cactáceas, la vegetación predominante actual consiste en nopal, cardón, yuca, mezquite, huizache y diversidad de biznagas. El paisaje actual en el Mezquital es producto de la actividad humana.

A lo largo de los años esta región se ha transformado profundamente tanto en sus aspectos sociales, culturales, como en los ambientales y paisajísticos: En el transcurso de las últimas cuatro décadas ésta región devino de expulsora neta de mano de obra barata en albañilería y sirvientas a otra de tipo más urbana e industrial. Los pueblos y comunidades transitaron de economías tradicionales o cerradas (basadas en la agricultura de subsistencia) a otras asociadas al trabajo industrial. Así, las tesis de Robert Redfield (1958) sobre la pequeña comunidad (arcaica, autosuficiente) y las de Eric Wolf (cerrada, igualitaria) no logran explicar los procesos ahí ocurridos. El Mezquital ha venido transformándose en su paisaje, en el ambiente social, cultural y ecológico. Las preguntas que guiaron la investigación fueron las siguientes ¿Qué paso aquí?, ¿Qué podemos hacer para restaurar estos sitios sumamente degradados en lo ecológico y social?

Para responder estas interrogantes hemos de indagar las condiciones históricas de ocupación del espacio tomando al ecosistema (en conjunción con los grupos sociales que ahí viven) como unidad de análisis. Las acciones de restauración deben iniciar o acelerar en los ecosistemas la capacidad de regenerarse por sí mismos, estos procesos deben favorecer mecanismos de resiliencia ecológica. Estos ecosistemas tienen su estabilidad

comprometida pues han sido afectados en gran escala, intensidad y frecuencia, pues ocurrieron cambios drásticos lo cual nos permite preguntar de qué a qué es necesario llevar a dichos ecosistemas. Lo cual permite poder determinar que tratamientos son necesarios.

TEORIA

Conocer el ecosistema original que se desea restaurar en el Mezquital parece una tarea imposible de realizar, sin embargo, si el objetivo de la restauración es imitar la estructura, funcionamiento, biodiversidad, dinámica es fundamental conocer como ha sido el uso de la tierra (Land use-Land cover) es decir si queremos entender el hoy, es preciso buscar en el pasado. Retomamos la noción de salud de la Tierra propuesta por Aldo Leopold asociadas a las características de los ecosistemas esto es la estructura, composición, funciones ecológicas y su asociación a los grupos humanos (sistemas socio-ecológicos) que permitan entender como el uso histórico de los ecosistemas han influenciado el estado presente del ecosistema y la tierra. Las condiciones actuales del ecosistema reflejan la historia y las fuerzas (como un campo de lucha) que le dan forma. Retomamos a Balee (2006) y a Apfelbaum y Haney (2012) con las premisas y postulados que brinda la ecología histórica, en este mismo sentido retomamos lo propuesto por el MEA (2005) y TEEB (2010) donde la base biofísica de estructura y funcionamiento del ecosistema (biodiversidad) los procesos (biodiversidad) y los servicios (biodiversidad) se unen a los beneficios que la sociedad pueda darle, a sus valores económicos y a los valores de uso o no uso. En el contexto ecológico y social, donde los Servicios Ecosistémicos (de provisión, regulación, socioculturales) media entre la estructura, procesos, funcionamiento del ecosistema y los beneficios y valores pertenecientes al bienestar humano.

OBJETIVO

Explorar las condiciones histórico-ambientales en la conformación del paisaje actual en un sitio sumamente degradado en la región industrial del estado de Hidalgo, que permita proponer medidas adecuadas para la rehabilitación de paisajes y mosaicos socioculturales dispares.

PARTE EXPERIMENTAL

El modelo teórico – metodológico de indagación se basa en los aspectos del tiempo, la escala temporal, las fuerzas conductoras, los cambios y los escenarios (económicos- ecológicos) que se genera. Para ello elaboramos un cuadro dialógico basado en Grunewald y Bastian (2015:37) se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Cuadro dialógico de observación				
Base física	Oportunidades	Utilización	Valoración	Manejo
Propiedades Estructura, funcionamiento Procesos	Para el uso de la tierra		Socio-económica	Dueños
Aspectos espaciales: escala espacial, dimensiones, patrones				
Uso, manejo, decisiones, participación,				

Elaboración propia basado en Gruneward y Bastian, (2015) Modificación propia.

El escenario o espacio geográfico de estudio y análisis lo constituye la región industrial del Valle del Mezquital, que actualmente abarca los municipios de Atotonilco de Tula, Atitalaquia, Tepeji del Rio, Tula y Apaxco perteneciente al estado de México. El instrumento de análisis lo constituyen una serie de mapas ubicados en el Archivo General de la Nación (AGN, en el ramo Tierras y Mercedes) como fuente arqueológica y documentación sustentada. Consideramos la dimensión espacial que va de la escala local a la regional, abarcamos el periodo del siglo XVI-XVIII, en ellos, indagamos las condiciones físicas las características hidrológicas: como arroyos, estanques, manantiales, filtraciones; suelo húmedo: tierras de riego, terrazas, áreas de escorrentía agrícola, suelos desnudos expuestos a erosión, rasgos de utilidad. Indagamos además aspectos biológicos como los patrones de cultivo, zonas forestadas, (bosque, arbustos), de la cubierta vegetal, así como los animales silvestres y domesticados. La información proporcionada por los mapas es colegida por documentos elaborados en aquella época tomados como fuentes primarias, así como observación directa en campo.

RESULTADOS

Un litigio de tierras en el siglo XVIII entre los herederos de Lorenzo de Aguilar Indio Principal de Atotonilco de Tula en 1589 constituye una fuente rica de información sobre el cambio paisajístico, de la composición étnica, demográfica, de la ocupación y el trabajo en el Mezquital. Los documentos probatorios de posesión antigua por parte de sus dueños en su calidad de *propiedad privada y heredada* de la tierra de un predio rustico en el Cerro Soyatla en Atotonilco de Tula que alegan por una parte de Rosa de Aguilar, Catalina de Aguilar-Christobal Larios, Andrea de Aguilar-Joseph Daniel en contra de Domingo Fernández, permiten recuperar la historia de un litigio, al tiempo que nos dejan ver la historia ecológica de estas tierras y de su ocupación. Las fuentes históricas del predio nos llevan a Lorenzo de Aguilar, que en 1589 solicita merced de un sitio de estancia para la cría de ganado menor (ovejas, cerdos y cabras) en términos del pueblo de Atotonilco en el Cerro Soyatla Fig. 1, el documento señala: “En la parte y lugar que llaman Coyatla al pie de un cerro que dicen Coyatla que esta enfrente do otro cerro que llaman Tochtepeque”

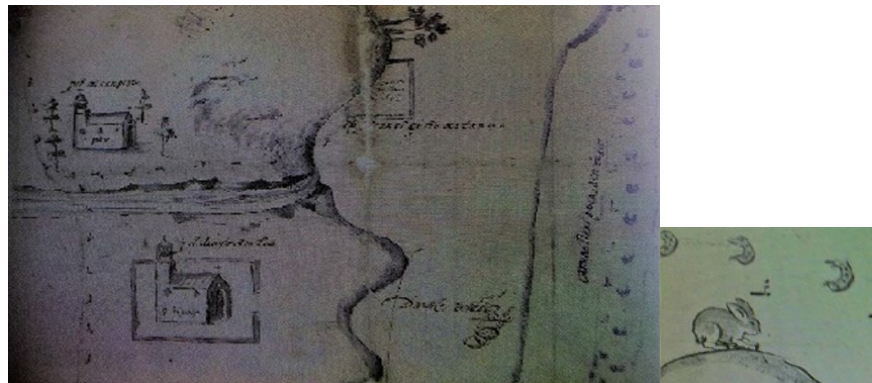


Figura 1. Ubicación del sitio de estancia de cría de ganado menor en el actual municipio Atotonilco de Tula, Hidalgo. Destaca los templos de Santiago Atotonilco y San Pedro Tlaxcoapan, se muestra un detalle de un cerro, un conejo y huellas de pies y herraduras (Archivo General de la Nación: Mercedes,

Este documento contiene elementos pictográficos (que recuerdan los códices) y leyendas en idioma náhuatl y otomí. “*ocani quitlani Don Lorenzo. Este es el sitio de estancia*” de distingue un conejo encima de un cerro junto a un camino de tierra adentro (para Zacatecas). Las huellas del camino indican el tránsito de mercancías rumbo a Querétaro. El archivo adjunto al mapa describe la vistas de ojos: “*y publique en la iglesia de dicho pueblo de Atotonilco en siten al gobernador y comunes y naturales de dicho pueblo y las personas interesadas se hallen presentes en la parte donde se pide merced*” al no estar ocupada se le reconoce como “*si es tierra valdía y eraiza y no haber en ella arboles frutales ni otra cosa que los naturales puedan aprovechar y que nunca ha sido cultivada*” Para los españoles un mecanismo de apropiación de tierras fue considerarlas desocupadas. La forma de despojo consistió en establecer sitios de estancia. Un sitio de estancia menor consta de una superficie aproximada 7.8 km² o 780 has. La capacidad de carga del sitio de estancia era de 10 000 borregos. La conquista biológica – ecológica en el Mezquital tuvo fuertes repercusiones sobre los ecosistemas constituye la introducción de borregos y cerdos, en el Mezquital entre 1551 y 1642 se solicitaron 42 sitios de estancia como se muestra en la figura 2. El impacto ecológico sobre la tierra es que cabras y borregos devoran toda materia vegetal a su paso, con sus pezuñas erosionan el suelo, forman canalitos, favorecen la formación de cárcavas. Alimentos, medicinas y plantas ornamentales utilizadas por los indígenas fueron comida de los borregos, la estructura de los pastizales se modificó a tal grado que surgieron nuevas semillas de arbustos espinosos.



Figura 2. Sitios de estancia en la región Tula y Mizquiahuala, el ganado domino los ecosistemas del Mezquital (Archivo General de la Nación: Ramo Tierras, Vol. 40 f. 32, 1635.)

La figura 3, pertenece al sitio Soyatla data de 1730. En el cual los herederos de Lorenzo de Aguilar solicitan se les restituya el daño causado al magueyal, en este tiempo dicho predio es utilizado para la producción de pulque, maíz y cal. En las diligencias para deslinde de los terrenos se puede leer “ *los que tiraron el cordel vinieron pisando, cerro arriba y cerro abajo, quixarros, y peñas grandes, magueyes, y nopales...hasta en derecho de dos peñas grandes*”[...] “ *al pie de un cerrito de Tuxtepec o de los conejos donde se halla un horno de cal y un xaguei pequeño en la orilla y parte poniente de la varranquilla o arroyo seco que nombran namde*”

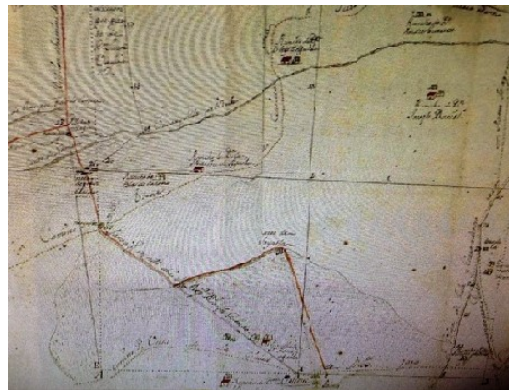


Figura 3. Destaca que en el cerro ya no hay árboles, ranchos de diferentes dueños, las fuentes de agua un jagüey, hay mayor resequedad, erosión, árbol pirú en tierras bajas. (Archivo General de la Nación: Tierras. Vol. 1896. Cuadro 2, f 50)

La figura 4 es mapa es similar al anterior por con mayor cantidad datos en su portada. En él se destacan elementos pictóricos de los pueblos nacientes (Sacamulpa, Atotonilco, Boxfhi). Se destaca el acceso, control y aprovechamiento de recursos como la piedra caliza (cal) el maguey y sus derivados, el uso agrícola de tierra en pequeños valles. En las zonas ubicadas en las partes bajas de los cerros hay la presencia de bosque espinoso o matorral crasicaule con abundancia de cactáceas. La presencia de varios hornos de cal en el mapa es un indicativo también de los altos niveles de deforestación que sufrió la zona. Pues para elaborar la cal se requieren enormes cantidades de leña (calor) y de agua para ser “quemada”

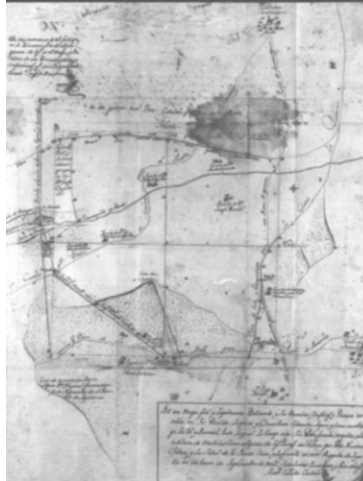


Figura 4. Sitio Soyatla se observa un cambio en la flora pues arbustos y pastos fueron forraje, su lugar lo ocupan nopales, huizaches, mezquites, las tierras fértiles son usadas para trigo y cebada, surge un campesinado mestizo (Archivo General de la Nación: Tierras. Vol. 1896 cuadro 2, f 50)

En el mismo mapa podemos ver el establecimiento de ranchos una vez que el sitio de estancia había sido repartido. Destaca la presencia de cultivos de maíz. El cultivo de maíz y maguey fue muy importante en Atotonilco; además del aguamiel y del pulque una vez raspado las pencas se tallan y se obtienen estropajos, se obtienen fibras para la producción de lazos y reatas. En estos cerros había tunales. Se destaca la presencia de la palma (quizás *Brassica juncea*) cuyas flores se comen (golumbos) en estos mapas se utiliza como lindero.

En las siguientes imágenes de carácter regional, se observan las cumbres de cerros y serranías arboladas (Atotonilco, Tetepango), figura 5, donde se destaca la Sierra Tezontlalpan donde todavía es posible encontrar relictos de bosque de encino. Los bosques proporcionaban elementos de caza como venado, conejos y liebres, tuzas, víboras, zorrillos, ratones de campo, codornices; en las zonas con mayor aridez había la recolección de quelites, malvas, verdolagas, tunas, garambullos y nopales.

En 1743 se publica el *Theatro Americano* en este libro se le denomina por primera vez El Mezquital a esta región, caracterizada por las pocas veces que llueve. Antes de la llegada de los españoles este espacio era conocido como la Teotlalpan o tierra de los dioses, se trataba de una tierra fértil destinada para la producción de semillas. Los españoles habían entrado a estos valles en 1519, a su arribo encuentran terrazas labradas, obras de irrigación junto a los ríos Salado, Tula, Tepeji, El Salto y Rosas. Sin embargo para el año de 1569 el régimen de lluvias ya había cambiado en los Papeles de la Nueva España se lee: "...no siembran mucho por ser tierra seca". Bajo el dominio Azteca estuvo a cargo del conquistador Diego de Pedraza su tributo consistía en aportar 400 cargas de cal, 400 litros de pulque y pieles de conejo. Entre los pueblos que se mencionan y desaparecieron se nombran Acocolco, Guapalcalco, Tehuehuac, Queccamaca y Xalac.



Figura 5. Atotonilco y Tetepango Sierra Tezontlalpan. Río Salado la presencia de bosques aseguraba la recolección. Archivo General de la Nación, Tierras, Vol. 2735 1ª parte exp. 9. f.9

La figura 6 presenta el Valle del Mezquital durante 1765, La presencia del Rio Salado, El Arroyo El Salto, El Rio Tepeji, el Rio Tula, proporcionaban mayor humedad al valle, en las áreas de confluencia de ríos y arroyos hay la presencia arqueológica de terrazas para cultivos de riego. En Tula había huertos caseros regados.



Figura 6 Valle de Tula, 1765. Destaca el canal de desagüe, los ríos permanentes, las fuentes de agua que fueron los jagüeyes, bordos, los cerros con pastos, los pueblos. (Archivo General de la Nación. Ramo Civil)

La siguiente imagen, (fig, 7) corresponde a la ocupación actual: destaca la presencia de Cemex, (en el cerro Soyatla) Cruz Azul, Holcim, Anáhuac, productoras de cemento. El Ejido de Progreso de Atotonilco de Tula explota material para la producción de cal. La carretera Tula-Jorobas cruza de norte a sur el tráfico de mercancías en aproximadamente 10 mil vehículos al día. Sobre el antiguo sitio de estancia surgieron nuevos barrios, ubicados bajo las líneas de alta tensión. Las repercusiones sobre la biodiversidad y los ecosistemas son de alta huella ecológica.

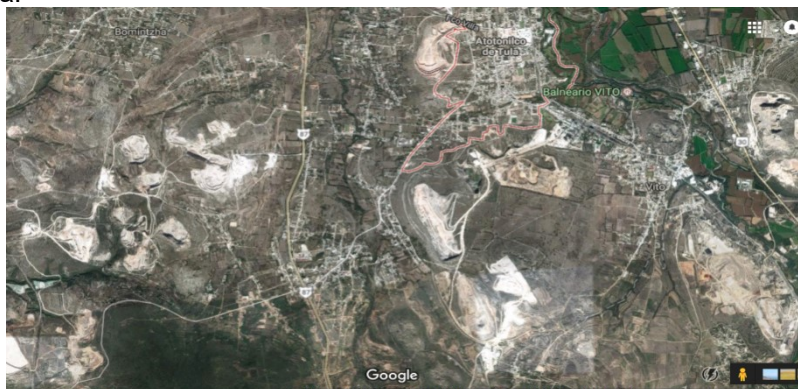


Fig. 7. Imagen actual del Sitio de Estancia, se destacan los cerros devastados por las cementeras, sin cuerpos de agua, concentración de espacios vitales (Tomada de Google Earth, abril 2017)

Los suelos están erosionados, sin vegetación y sin fauna silvestre. La acumulación por despojo tiene lugar pues no hay empleo, en la producción de cemento y cal se utilizan materiales peligrosos como combustible.

DISCUSIÓN

¿Qué nos dicen estos mapas respecto a la ocupación del territorio? Sin lugar a dudas la cercanía con las metrópolis (Tula, Teotihuacán, Tenochtitlán) desde tiempos prehispánicos ha sido asociada a una producción (semillas, cal, pulque) que ha estado al servicio de grupos dominantes. Los descubrimientos recientes de nuevos hallazgos arqueológicos toltecas en Apaxco, el Pedregal y Ajacuba indican una expansión urbana en la época de 950 a 1150 DC donde vivían aproximadamente 10 mil personas. Los mexicas consideraban la parte sur del

Mezquital como su semillero al que le nombraron Teotlalpan por ser tierra buena para la agricultura. Actualmente en este espacio tiene lugar el asentamiento del parque industrial Tepeji, Atitalaquia, Atotonilco y Apasco. Con relación a la prestación de servicios ambientales vemos que en la época Tolteca la población fue muy densa por la provisión de recursos como madera, agua, cal, animales silvestres, plantas comestibles, tierras aluviales. Durante la colonia los grupos indígenas de origen nahua y otomí son desplazados por borregos. Bastaron dos siglos para que la composición étnica cambiara pues para 1791 se registran indios, españoles, mulatos y mestizos. Acorde a la Descripción del Arzobispado para Zoyatla en 1570 se registran 300 tributarios, en Atotonilco 400 al paso del tiempo este barrio desapareció. Actualmente se han instalado nuevos centros habitacionales que no cuentan con los servicios de agua, recolección de basura, no hay sitios de conservación ecológica, por lo cual resulta importante considerar la historia ambiental de estos sitios para planear su ocupación.

CONCLUSIONES

Lo que se busca en este trabajo fue investigar los procesos sociales y ecológicos en permanente transformación, vistos no como fenómenos estáticos sino a través de las dinámicas que se han generado a lo largo de la historia, mucho antes de la edificación de las antiguas ciudades míticas como Tula, así como los mecanismos de dominación por grupos con mayor poder político y militar. Este poder económico, político e ideológico recae ahora en las empresas (Cemex, Cruz Azul, Cargill, Pemex, CFE) donde la naturaleza es vista como el gran vertedero de desechos de toda índole. La historia ambiental de este rincón sur del Mezquital nos hace el reto de mayor profundidad.

BIBLIOGRAFIA

1. Angeles J.P. Lluvia de piedras. Tesis para obtener el grado de Maestro en Desarrollo Rural, UAM-X. México, 2002.
2. Grundewald, K., Bastian O. Ecosystem services, concepts, methods and case studies (Springer New York 2015.) Pp 13-31
3. Balee, W. The research program of historical ecology. *Annu. Rev. Anthropol.* 2006, 35:75-98.
4. Ramírez C. V. C. Caciques y cacicazgos indígenas en la región de Tollan, siglos XIV-XVII. (El Colegio de Michoacán, México, 2010) pp. 15-86
5. Palma L. V. La Teotlalpan tierra de los Dioses, la etnicidad entre los otomíes, (Editorial Primer Círculo, México, 2010). Pp. 55-134

DETERMINACIÓN DE METALES EN CERVEZAS ARTESANALES E INDUSTRIALES

Ismael Soto Lopez, Nereida Solano Ramírez, Mónica Cruz Hernández, Luis Ángel Aguilar Carrasco, Lidia Meléndez Balbuena, Guadalupe López Olivares y Alejandra Castro Lino

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. issolo2015@yahoo.com

RESUMEN

Desde tiempos remotos, el alcohol ha formado parte de la vida del hombre como parte de la alimentación y la recreación; así, se le han atribuido efectos positivos y negativos sobre la salud y en relación con la sociedad.

Las bebidas alcohólicas se suelen clasificar en bebidas fermentadas y bebidas destiladas. Dentro de las primeras se encuentra la cerveza, cuyo consumo ha ido en aumento en los últimos años.

Con objeto de que la cerveza embotellada mantenga todas sus propiedades de nutrición es recomendable consumirla en un plazo de tres meses después de su producción, debido a que con el paso del tiempo y con el aumento de la temperatura de almacenamiento, aparecen cambios en el color, alteraciones de sabor debido a los procesos de oxidación, además de una menor calidad de la espuma. La temperatura ideal de consumo de la cerveza se encuentra entre 7 y 10°C.

La finalidad de este trabajo ha sido analizar la presencia de los metales en las cervezas que son los principales factores que dan las propiedades características a las mismas, ya que el aumento o disminución de la concentración de estos causa cambios significativos en sus propiedades.

INTRODUCCIÓN

Se llama cerveza, en el sentido más amplio, a una bebida fermentada cuya base son los cereales, principalmente cebada. La cebada aporta el aroma específico de la cerveza. Los saborizantes amargos proceden de las flores femeninas de la planta del lúpulo. Estos compuestos "amargos" también tienen importancia tecnológica: precipitan proteínas, estabilizan la espuma y actúan como conservantes.

La cerveza es la única bebida alcohólica que contiene lúpulo. Junto con el alcohol y el lúpulo, el anhídrido carbónico contribuye a que la cerveza carezca de microorganismos patógenos. Además, contiene fibra alimentaria en pequeñas cantidades que provienen de la malta

El aroma de la cerveza es debido al lúpulo y a los productos secundarios de tostado y fermentación y su acción refrescante se debe al anhídrido carbónico.

Las primeras referencias de la cerveza se encuentran en tabletas de arcilla grabadas con caracteres cuneiformes que dejaron los sumerios hace más de 6 mil años. La aparición de la cerveza es contemporánea de los primeros cereales cultivados. A partir de la utilización de la masa para hacer pan, el hombre descubrió 8 mil años a.C. la fermentación del grano e inventó el "vino de grano".

En Mesopotamia, enterradas en la arena de Sumer, se han descubierto tablas que revelan el ritual sagrado de una bebida fermentada. Esta primera cerveza, denominada *sikaru*, hervida, ligeramente ácida, poseía una pureza bacteriológica indispensable en un país caluroso, donde el agua potable era muy rara.

Pero la cerveza egipcia es célebre en toda la historia. El mundo griego y romano debió identificar la cerveza con los egipcios, puesto que el término *zythum* que denominaba esta bebida fermentada de granos de cereal se mantuvo con el mismo significado en lengua griega. Los griegos la llamaron *zythos*.

Los chinos también conocían la cerveza, hallándose técnicamente más adelantados en su elaboración. No se trata ya de un pan líquido sino de un licor enervante *tsiú*, reservado a los príncipes para ofrendarlo a sus antepasados.

Los romanos adoptaron la bebida de los galos, quienes la denominaron *cervesia*, término que también se conservó en latín.

Curiosamente, su fabricación era privativa de las mujeres desde los tiempos más remotos. Esta situación se ve modificada entre los siglos XI y XII, cuando aparecen las primeras fábricas artesanales en las ciudades europeas.

Durante la edad media la cervecería se vuelve una actividad muy rentable, tanto que permite cobrar impuestos. Los monasterios gozaban de gran prestigio entre los maestros cerveceros por haber desarrollado nuevas técnicas de elaboración gracias a ellos se crean los primeros gremios de fabricantes, quienes entre otras cosas reglamentan el acceso a su profesión, imponiendo un aprendizaje.

La producción industrial y artesanal mundial es de aproximadamente 1500 millones de hectolitros de cerveza cada año, y lo que realmente ha supuesto un impulso para el mercado ha sido la producción de cervezas artesanales de calidad.

La gran variedad de cervezas contiene diferentes componentes metálicos que pueden observarse en la Tabla 1, en la que se reporta el contenido de minerales presentes en la cerveza debido a un consumo moderado.

	25 cL		50 cL	
	mg	% RD *	mg	% RD *
Potasio	138,5	6,93	277	13,85
Sodio	11	2	22	4
Calcio	8,75	0,88	17,5	1,75
Magnesio	24	8	48	13,7
Fósforo total	79,75	11,4	159,5	22,8
Sulfatos	41,75		83,5	
Cloruros	43,5	5,24	87	10,48
Silicatos	26,5		53	
Nitratos	5,5		11	
Cobre	0,025	2,5 - 1,66	0,05	5 - 3,33
Hierro	0,0275	0,183	0,055	0,55
Manganeso	0,04		0,08	
Cinc	0,015	0,21	0,03	0,3
Aluminio	0,08825		0,1765	
Antimonio	0,00045		0,0009	
Bario	0,009675		0,01935	
Níquel	0,002575		0,00515	
Plata	0,000125		0,00025	
Arsénico	0,001675		0,00335	
Plomo	0,00055		0,0011	
Cadmio	0,00005		0,0001	
Mercurio	< 0,0002		< 0,0002	
Cromo	0,0017	5,66 - 1,7	0,0034	11,32 - 3,4
Selenio	0,000275	0,92 - 0,39	0,00055	1,84 - 0,79

Modificado de: Piendl, 1999

* DACH, 2000 (ver página 22)

Tabla 1. Contenido en minerales y elementos trazas de la cerveza en las cantidades definidas como consumo moderado (25 cL para mujeres y 50 cL para hombres)

METODOLOGIA

La espectroscopia de absorción atómica es una técnica cuya introducción al análisis químico es relativamente reciente. Inicia en 1955, con los trabajos del científico australiano A. Walsh y su comunicación titulada << Aplicación de la espectroscopia de absorción atómica al análisis químico >>.

Es un método para la detección y la determinación de elementos químicos, particularmente elementos metálicos. Para su análisis los compuestos se tienen que descomponer en los átomos por los que está constituido. Se realiza por pulverización en llama a altas temperaturas. Un rayo luminoso producido por una lámpara a una cierta longitud de onda, el cuál es dirigido a lo largo del eje longitudinal de una llama plana y hacia un espectrofotómetro. Simultáneamente, la solución de la muestra es aspirada hacia el interior de la llama, en el que antes de entrar es dispersada formando una niebla de gotitas muy finas, que se evaporan en contacto con la llama dando la sal seca, para después dar el vapor de la sal, que se disocia parcialmente en átomos del elemento que se desea determinar.

Las muestras a analizar en la absorción atómica fueron 4 diferentes tipos de cervezas artesanales y 4 diferentes tipos de cervezas industriales

RESULTADOS

CERVEZAS:

A= Cerveza Berber Clara

B= Cerveza Goose Island Clara

C= Cerveza Czech Lager Negra

D= Cerveza Berber Negra

PLOMO	
Concentración ppm	Absorbancia
1	0.162
2	0.184
3	0.205
4	0.227

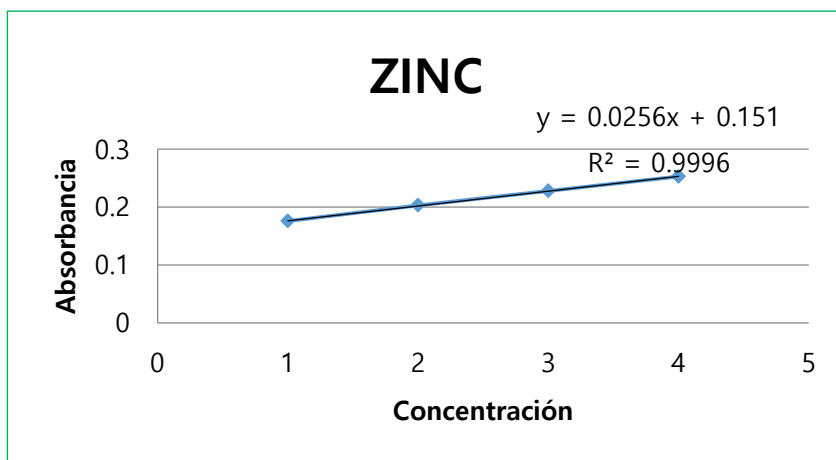
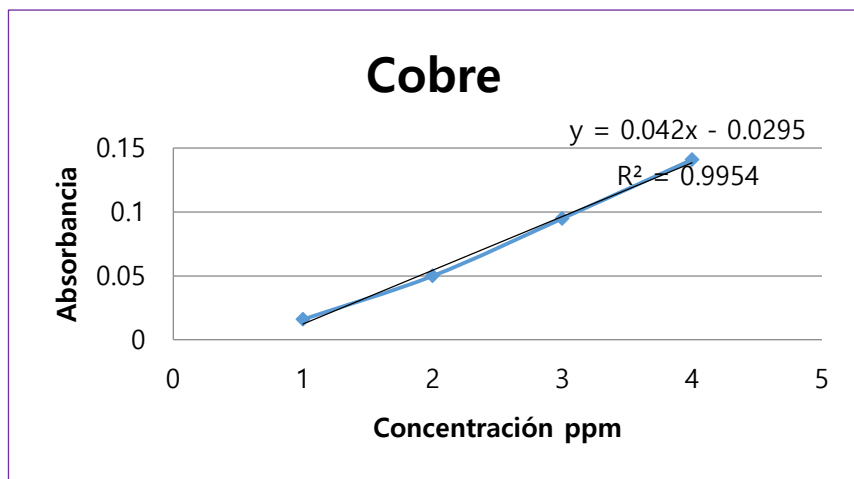
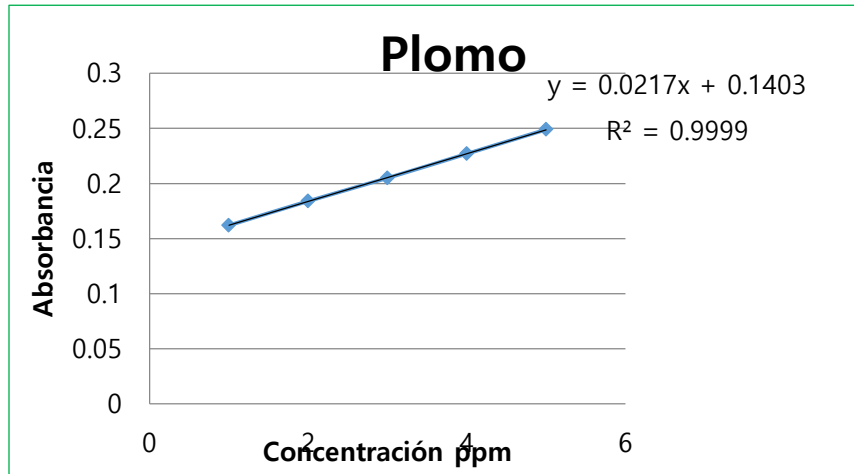
PLOMO		
Cervezas	Absorbancia	Concentración
A	0.137	-0.142857143
B	0.136	-0.19047619
C	0.136	-0.19047619
D	0.135	-0.238095238

COBRE	
Concentración ppm	Absorbancia
1	0.016
2	0.05
3	0.095
4	0.141

COBRE		
Cervezas	Absorbancia	Concentración
A	0	0
B	0	0
C	0	0
D	0	0

ZINC	
Concentración ppm	Absorbancia
1	0.176
2	0.203
3	0.228
4	0.253

ZINC		
Cervezas	Absorbancia	concentración
A	0.201	2
B	0.2	1.96
C	0.201	2
D	0.198	1.88



CONCLUSIONES

Como se puede observar en los resultados no se encontró presencia de cobre en el análisis realizado, esto puede deberse a que si hay grandes concentraciones favorecería la continua fermentación de las levaduras presentes en la cerveza, por lo que tendría una vida de anaquel más corta. En el caso del plomo a grandes concentraciones sería tóxico para el organismo. En el zinc se observa una mayor concentración y esto puede deberse a que éste le proporciona una mayor estabilidad a la espuma del mismo.

Los minerales son necesarios para el desarrollo y nutrición de las células, así como también para la formación de órganos, tejidos, sistema nervioso y oseo, es aquí donde radica la importancia de estudiarlos.

BIBLIOGRAFIA

1. Bebidas y regiones historia e impacto de la cultura etílica en México. Barcelona, España: Plaza y Valdés. (2005).
2. Walton H.F., Reyes J. Análisis químico e instrumental moderno. Barcelona, España: REVERTE S.A (2005).
3. S. Pilla, G. Vinci. Cervezas de todo el mundo. enciclopedia práctica. De Vecchi Ediciones. (2012).
4. Medina, F.X. LA ALIMENTACION MEDITERRÁNEA: HISTORIA, CULTURAL, NUTRICIÓN. Barcelona: Icaria Antrazyt. (1996).

ANÁLISIS DE LAS ESTRUCTURAS DE DIFRACCIÓN DE RAYOS-X DE BENZOTIAZOLISO-TIOUREAS DERIVADAS DE AMINOÁCIDOS

Alejandro Cruz, María Esther Bautista Ramírez y Efrén V. García Báez

Instituto Politécnico Nacional-UPIBI, ¹Departamento de Ciencias Básicas, ²Departamento de ciencia y tecnología farmacéutica, Av. Acueducto s/n, Barrio la Laguna Ticomán, México, D. F., 07340, Mexico. e-mail: alcralmx@hotmail.com

RESUMEN

En este trabajo, se presenta el análisis de las estructuras de cuatro benzotiazolisotiourea metil ésteres **6** ópticamente activos derivados de aminoácidos que se sintetizaron por reacción del 2-ditiometilcarboimidatobenzotiazol **2** con el carboxilato del correspondiente aminoácido, seguido de una metilación con yoduro de metilo en agitación de DMF como disolvente. Los compuestos **6** precipitaron, se filtraron y se recrystalizaron de etanol, se seleccionaron cristales adecuados para su difracción. Las estructuras de todos los compuestos se analizaron por difracción de Rayos-X de mono cristal. En general, las estructuras de los compuestos **6** presentaron isomería *E*, lo que confirma la estereoquímica de la reacción. La estructura de los compuestos **6a** y **6c** se estabilizan por interacciones por puente de hidrogeno del tipo tricéntrico N3...H12...O15 entre el amino N12H12 con el átomo de nitrógeno del anillo del benzotiazol y con el átomo de oxígeno del grupo carbonilo, formando dos anillos intra moleculares *S*(6) y *S*(5), respectivamente. El análisis de las estructuras en estado sólido, permitió proponer la asistencia del puente de hidrógeno en la estereoquímica de la reacción.

INTRODUCTION

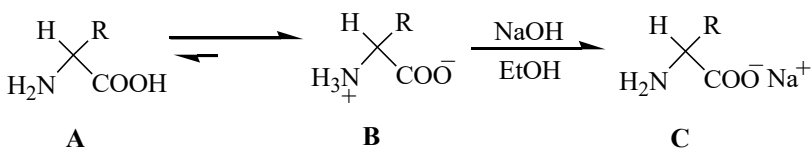
El benzotiazol es un sistema bicíclico aromático compuesto por un anillo de benceno fusionado a un anillo de tiazol. El grupo benzotiazol es una molécula pequeña, sin embargo, es un compuesto interesante debido a sus varias actividades biológicas encontradas en compuestos que lo contienen. A principios de los años 20, se encontró que los derivados del benzotiazol poseen actividades biológicas tales como antiviral [1], antibacterial [2], antimicrobial [3], fungicidal [4], antialérgico [5], antidiabético [6], antitumoral [7], antiin-flamatorio [8] anthelmintico [9].

En los últimos cincuenta años y hasta nuestros días, ha habido un interés continuo en este tipo de compuestos y se han hecho grandes esfuerzos para sintetizar varios compuestos heterocíclicos derivados del grupo benzotiazol. Se ha encontrado que varios de estos derivados también poseen actividades como: anticonvulsivos [10] y antioxidantes [11]. Cada año, se sintetizan varios derivados del benzotiazol para investigar su actividad biológica y puedan ser usados en química medicinal [12].

El estudio de la estructura en el estado sólido, por difracción de rayos-X de monocristal de los compuestos, es muy importante porque nos permite predecir las conformaciones, así como los sitios que permitan las interacciones de la molécula con los receptores biológicos. En este sentido, en este trabajo se hace un análisis de las benzotiazolisotioureas derivadas de cuatro aminoácidos sintetizados en el laboratorio.

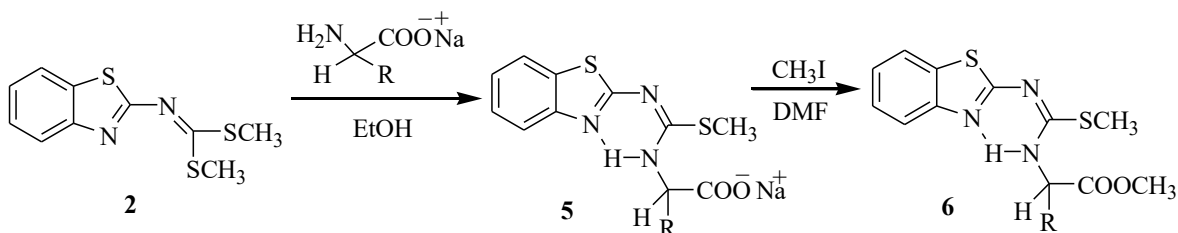
RESULTADOS

Se utilizaron cuatro aminoácidos **A**: glicina (R = H) (**a**), *l*-alanina (R = CH₃) (**b**), *d*-fenyl glicina (R = C₆H₅) (**c**) y *l*-fenilalanina (R = CH₂C₆H₅) (**d**), los cuales son estables como switteriones **B**. Para tener el par libre del grupo amina, los aminoácidos por reacción con un equivalente molar de hidróxido de sodio en agitación de etanol por 2 horas, se transformaron en sus carboxilatos de sodio **C**, esquema 2.



Esquema 2. Generación de los carboxilatos de sodio **C** a partir de los aminoácidos **A**.

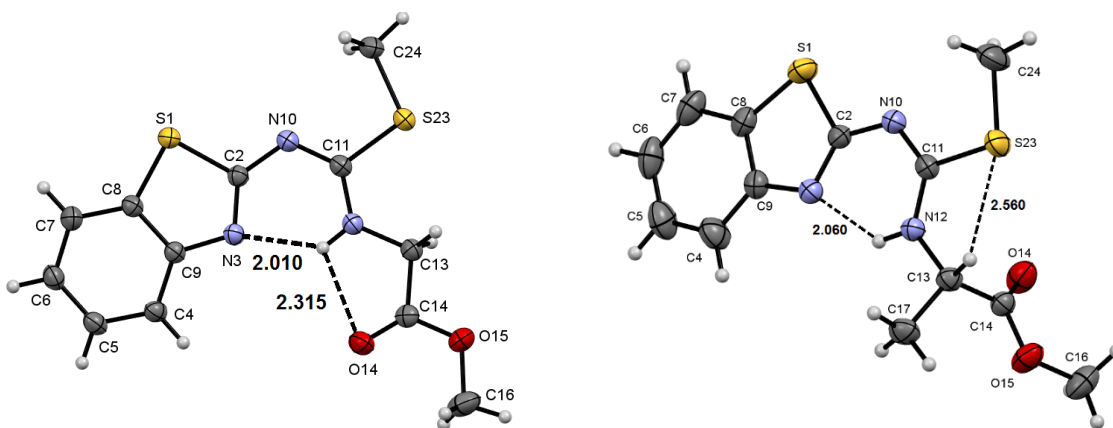
Después de la formación *in situ* de los carboxilatos de sodio **C**, se adiciona un equivalente molar del Sdimetil-carboimidatobenzotiazol **2**, se agita la reacción por tres días a temperatura ambiente. La reacción procede por ataque nucleofílico del grupo amina con una eliminación lenta de gas tiometanol para producir las correspondientes sales de sodio de las isotiourea carboxilatos **5a-d**, esquema 3. Los correspondientes ésteres metílicos, **6a-d** se obtienen después de la metilación de los carboxilatos **5a-d** con yoduro de metilo.

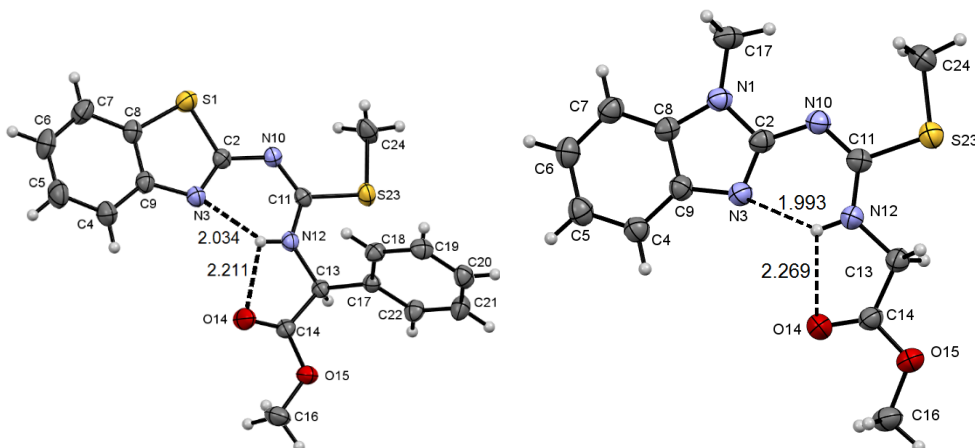


R = H, **a**; CH₃, **b**; Ph, **c**; CH₂Ph, **d**

Esquema 3. Síntesis de S-metilisotiourea carboxilatos **5a-d** y sus metil ésteres **6a-d**.

La isotiourea metil éster (*R*)-**6c** se purificó por cristalización de una solución de etanol se separaron cristales adecuados para su análisis por difracción de rayos-X. La estructura molecular de este compuesto se presenta en la figura 1. El NH está fijado por dos interacciones por Puente de hidrógeno, una de ellas con el átomo de nitrógeno del anillo de benzotiazol, N12H...N3 (2.042 Å, 131°) y la otra con el átomo de oxígeno del carbonilo, N12H...O14 (2.195 Å, 111°), formando anillos de seis (S6) y cinco (S5) miembros. Esta condición permite que la cadena lateral se encuentre en el mismo plano que el anillo de benzotiazol, incluyendo los átomos de carbono de los grupos SMe y OMe. Los átomos O14, O15 y C16 son los que se encuentran más desviados del plano (S1-C16/S23-C24) por 0.281(3), -0.165(3) y -0.191(4) Å, respectivamente. En esta estructura, el grupo fenilo de la glicina (C13/C17-C22) se encuentra 78.92(5)° fuera del plano del complemento mclular. El puente de hidrógeno intramolecular también fija la estereoquímica del enlace N10-C1 de la imina, por lo que solo el isómero (*E*) se observa.





Distancias de enlace (Angstrom).

S(1)-C(2)	1.7542(1)	S(1)-C(8)	1.7386(1)	S(23)-C(11)	1.7556(1)
S(23)-C(24)	1.7937(1)	O(14)-C(14)	1.1926(1)	O(15)-C(14)	1.3163(1)
O(15)-C(16)	1.4436(1)	N(3)-C(2)	1.3019(1)	N(3)-C(9)	1.3918(1)
N(10)-C(2)	1.3725(1)	N(10)-C(11)	1.3050(1)	N(12)-C(11)	1.3406(1)
N(12)-C(13)	1.4509(1)	C(4)-C(5)	1.3619(1)	C(4)-C(9)	1.3908(1)
C(5)-C(6)	1.3723(1)	C(6)-C(7)	1.3716(1)	C(7)-C(8)	1.3981(1)
C(8)-C(9)	1.3913(1)	C(13)-C(14)	1.5237(1)	C(13)-C(17)	1.5205(1)
C(17)-C(18)	1.3752(1)	C(17)-C(22)	1.3726(1)	C(18)-C(19)	1.3828(1)
C(19)-C(20)	1.3698(1)	C(20)-C(21)	1.3702(1)	C(21)-C(22)	1.3769(1)

Angulos de enlace (Grados)

C(2)-S(1)-C(8)	88.95	C(11)-S(23)-C(24)	101.46	C(14)-O(15)-C(16)	116.53
C(2)-N(3)-C(9)	111.06	C(2)-N(10)-C(11)	120.60	C(11)-N(12)-C(13)	127.48
S(1)-C(2)-N(3)	115.29	S(1)-C(2)-N(10)	115.29	N(3)-C(2)-N(10)	129.42
C(5)-C(4)-C(9)	119.21	C(4)-C(5)-C(6)	121.71	C(5)-C(6)-C(7)	120.81
C(6)-C(7)-C(8)	118.03	S(1)-C(8)-C(7)	129.12	S(1)-C(8)-C(9)	109.73
C(7)-C(8)-C(9)	121.14	N(3)-C(9)-C(8)	125.95	N(3)-C(9)-C(7)	114.96
C(4)-C(9)-C(8)	119.10	S(23)-C(11)-N(10)	118.61	S(23)-C(11)-N(12)	115.88
N(10)-C(11)-N(12)	125.50	N(12)-C(13)-C(14)	106.29	N(12)-C(13)-C(17)	114.76
C(14)-C(13)-C(17)	110.19	O(14)-C(14)-O(15)	124.28	O(14)-C(14)-C(13)	124.27
O(15)-C(14)-C(13)	111.44	C(13)-C(17)-C(18)	120.78	C(13)-C(17)-C(22)	119.87
C(18)-C(17)-C(22)	119.32	C(17)-C(18)-C(19)	120.10	C(18)-C(19)-C(20)	119.95
C(19)-C(20)-C(21)	120.24	C(20)-C(21)-C(22)	119.64	C(17)-C(22)-C(21)	120.75

Angulos de torsión (Grados)

N3-C2-S1-C8	0.29	N10-C2-S1-C8	-179.97	S1-C2-N3-C9	0.15
N10-C2-N3-C9	-179.53	S1-C2-N10-C11	179.07	N3-C2-N10-C11	-1.25
C9-C4-C5-C6	-0.56	C5-C4-C9-N3	179.97	C5-C4-C9-C8	0.25
C4-C5-C6-C7	0.21	C5-C6-C7-C8	0.43	C6-C7-C8-S1	178.97
C6-C7-C8-C9	-0.73	C7-C8-S1-C2	179.64	C9-C8-S1-C2	-0.64
S1-C8-C9-N3	0.89	S1-C8-C9-C4	-179.36	C7-C8-C9-N3	-179.36
C7-C8-C9-C4	0.39	C4-C9-N3-C2	179.58	C8-C9-N3-C2	-0.68
N10-C11-S23-C24	-0.94	N12-C11-S23-C24	179.76	S23-C11-N10C2	175.94
N12-C11-N10-C2	-4.84	S23-C11-N12-C13	-6.92	N10-C11-N12-C13	173.83
C14-C13-N12-C11	-174.04	C17-C13-N12-C11	63.91	N12-C13-C14)-O14	-7.06
C13-C14-O15	172.22	C17-C13-C14-O14	117.85	C17-C13-C14-O15	-62.87

N12-C13-C17-C18	37.72	N12-C13-C17-C22	-144.17	C14-C13-C17-C18	-82.19
C14-C13-C17-C22	95.93	O14-C14-O15-C16	-0.09	C13-C14-O15-C16	-179.36
C13-C17-C18-C19	178.06	C22-C17-C18-C19	-0.07	C13-C17-C22-C21	-177.62
C18-C17-C22-C21	0.53	C17-C18-C19-C20	-0.15	C18-C19-C20-C21	-0.09
C19-C20-C21-C22	0.54	C20-C21-C22-C17	-0.76		

BIBLIOGRAFÍA

- Borthwick, A. D.; Davies, D. E.; Ertl, P. F.; Exall, Anne M.; Haley, T. M.; Hart, G. J.; Jackson, D. L.; Parry, N. R.; Patikis, A.; Trivedi, N.; Weingarten, G. G. and Woolven, J. M. Design and Synthesis of Pyrrolidine-5,5'-trans-Lactams (5-Oxo-hexahydropyrrolo[3,2-b]pyrroles) as Novel Mechanism-Based Inhibitors of Human Cytomegalovirus Protease. 4. Antiviral Activity and Plasma Stability *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 4428–4449. b) Akhtar, T.; Hameed, S.; Al-Masoudi, N.A.; Loddo, R.; La Colla, P. In vitro antitumor and antiviral activities of new benzothiazoles and 1,3,4-oxadiazole-2-tione derivatives. *Acta Pharm.* **2008**, *58*, 135-149. c) Ke, S.; Wei, Y.; Ziwen, Y.; Wang, K.; Liang, Y.; Shi, L. Novel cycloalkylthiophene-imine derivatives bearing benzothiazole scaffold: Synthesis, characterization and antiviral activity evaluation *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 5131-5134.
- Haydon, D. J.; Stokes, N. R.; Ure, R.; Galbraith, G.; Bennett, J. M.; Brown, D. R.; Baker, P. J.; Barynin, V. V.; Rice, D. W.; Sedelnikova, S. E.; Heal, J. R.; Sheridan, J. M.; Aiwale, S. T.; Chauhan, P. K.; Srivastava, A.; Taneja, A.; Collins, I.; Errington, J.; Czaplowski, L. G. An inhibitor of FtsZ with potent and selective anti-staphylococcal activity. *Science* **2008**, *321*, 1673–1675. b) Saeed, A.; Rafique, H.; Hameed, A. and Rasheed, S. Synthesis and Antibacterial Activity of Some New 1-aryl-3-(substituted-2-benzothiazolyl)thio-ureas *Pharm. Chem. J.* **2008**, *42*, 191-195. c) Haydon, D. J.; Bennett, J. M.; Brown, D.; Collins, I.; Galbraith, G.; Lancett, P.; Macdonald, R.; Stokes, Neil R.; Pramod, K.; Chauhan, J. K. S.; Nayal, N.; Srivastava, A.; Beanland, J.; Hall, R.; Henstock, V.; Noula, C.; Rockley, Ch. and Czaplowski, L. Creating an Antibacterial with in Vivo Efficacy: Synthesis and Characterization of Potent Inhibitors of the Bacterial Cell Division Protein FtsZ with Improved Pharmaceutical Properties *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 3927–3936.
- Scheich, C.; Puetter, V. and Schade M. Novel Small Molecule Inhibitors of MDR Mycobacterium tuberculosis by NMR Fragment Screening of Antigen 85C *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 8362–8367. b) Singh, M. K.; Tilak, R.; Nath, G.; Awasthi, S. K.; Agarwal, A. Design, synthesis and antimicrobial activity of novel benzothiazole analogs *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *63*, 635-644. c) Singh, M.; Gangwar, M.; Nath, G.; Singh, S.K. Synthesis, DNA cleavage and antimicrobial activity of 4-thiazolidinones-benzothiazole conjugates *Indian J. Exp. Biol.* **2014**, *52*(11), 1062-1070.
- Mittal, S.; Samota, M. K.; Kaur, J. and Seth, G. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements* Synthesis, Spectral, and Antifungal Evaluation of Phosphorylated and Thiophospho-rylated Benzothiazole Derivatives **2007**, *182*, 2105-2113. b) Huang W. and Yang G.-F. Microwave-assisted, one-pot syntheses and fungicidal activity of polyfluorinated 2-benzylthiobenzothiazoles *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 8280–8285.
- Musser, JH.; Brown, RE.; Love, B.; Baily, K.; Jones, H.; Kahen, R. Synthesis of 2-(2,3-dihydro-2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-yl) benzo heterocycles. A novel series of orally active antiallergic agents *J. Med. Chem.* **1984**, *27*, 121-125. b) Ager, I. R.; Barnes, A. C.; Danswan, G. W.; Hairsine, P. W.; Kay, D. P.; Kennewell, P. D.; Matharu, S. S.; Miller, P.; Robson, P. Synthesis and oral antiallergic activity of carboxylic acids derived from imidazo[2,1-c][1,4]benzoxazines, imidazo[1,2-a]quinolines, imidazo[1,2-a]quinoxalines, imidazo[1,2-a]quinoxalinones, pyrrolo[1,2-a]quinoxalinones, pyrrolo[2,3-a]quinoxalinones, and imidazo[2,1-b]benzothiazoles *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 1098–1115.
- Pattan, S. R.; Suresh, C.; Pujar, V. D.; Reddy V. V. K.; Rasal, V.P.; Kotti, B.C. Synthesis and antidiabetic activity of 2-amino [5'(4-sulphonylbenzylidene)-2,4-thiazolidinedione]-7-

- chloro-6-fluorobenzothiazole *Indian J. Chem.* **2005**, *44B*, 2404-2408. b) Moreno-Díaz, H.; Villalobos-Molina, R.; Ortiz-Andrade, R.; Díaz-Coutiño, D.; Medina-Franco, J. L.; Webster, S. P.; Binnie, M.; Estrada-Soto, S.; o Ibarra-Barajas, M.; León-Rivera, I. and Navarrete-Vázquez, G. Antidiabetic activity of N-(6-substituted-1,3- benzothiazol-2-yl)benzenesulfonamides *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 2871–2877. c) Mariappan, G.; Prabhat, P.; Sutharson, L.; Banerjee, J.; Patangia, U.; Nath, S. Synthesis and Antidiabetic Evaluation of Benzothiazole Derivatives *J. Korean Chem. Soc.* **2012**, *56*, 251-256.
7. Yoshida, M.; Hayakawa, I.; Hyashi, N.; Agatsuma, T.; Oda, Y.; Tanzawa, F. Synthesis and biological evaluation of benzothiazole derivatives as potent antitumor agents *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 3328-3332. b) Racane, L.; Tralic-Kulenovic, V.; Fiser-Jakic, L.; Boykin, D.W. and Karminski-Zamola, G. Synthesis of Bis-substituted Amidinobenzotiazoles as Potential Anti-HIV Agents *Heterocycles* **2001**, *55*, 2085-2098. c) Mahmood-ul-Hasan; Chohan, Z.H. and Supuran, C.T. Antibacterial Zn(II) Compounds of Schiff Bases Derived From Some Benzothiazoles *Main Group Met. Chem.*, **2002**, *25*, 291-296. d) O'Brien, SE.; Browne, HL.; Bradshaw, TD.; Westwell, AD.; Stevens MFG.; Laughton CA. Antitumor benzothiazoles. Frontier molecular orbital analysis predicts bioactivation of 2-(4-aminophenyl)benzothiazoles to reactive intermediates by cytochrome P4501A1 *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *3*, 493-497. e) Trapani, V.; Patel, V.; Leong, CO.; Ciolino, H P.; Yeh, GC.; Hose, C.; Trepel, JB.; Steven MFG.; Stausvill, EA.; Loaiza-Perez, A. I. DNA damage and cell cycle arrest induced by 2-(4-amino-3-methylphenyl)-5-fluorobenzothiazole (5F 203, NSC 703786) is attenuated in aryl hydrocarbon receptor deficient MCF-7 cells *Brit. J. Cancer.* **2003**, *88*, 599-605. f) El-Sherbeny, M.A. Synthesis of Certain Pyrimido[2,1-b]benzothiazole and Benzothiazolo[2,3-b]quinazoline Derivatives for in vitro Antitumor and Antiviral Activities *Arzneim-Forsch.* **2000**, *50*, 848-853. g) Trapani, G.; Franco, M.; Latrofa, A.; Reho, A. and Liso, G. Synthesis, in vitro and in vivo cytotoxicity, and prediction of the intestinal absorption of substituted 2-ethoxycarbonyl-imidazo[2,1-b]benzothiazoles *Eur. J. Pharm. Sci.* **2001**, *14*, 209-216. h) Srimanth, K.; Rao, V.R. and Krishna, D.R. Synthesis and Evaluation of Anticancer Activity of Some Imidazothiazolyl, Imidazobenzothiazolyl and Dihydroimidazothiazolyl Coumarins *Arzneim-Forsch.* **2002**, *52*, 388-392. i) Bradshaw, T. D.; Westwell, A. D. The development of the antitumour benzothiazole prodrug, Phortress, as a clinical candidate. *Curr. Med. Chem.* **2004**, *11*, 1009-1021. j) Yan, Y.; Xie, X.; Zhu, N.; Liu, G. Benzothiazoles exhibit broad-spectrum antitumor activity: their potency estructure-activity and structure-metabolism relationships *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *76*, 67-78. k) Yurttas, L.; Tay, F. and Demirayak, S. Synthesis and antitumor activity evaluation of new 2-(4-amino-phenyl)benzothiazole derivatives bearing different heterocyclic ring *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2015**, *30*, 458-465. l) Gabr, M. T.; El-Gohary, N. S.; El-Bendary, E. R.; El-Kerdawy, M. M. Synthesis and in vitro antitumor activity of new series of benzothiazole and pyrimido[2,1-b]benzothiazole derivatives *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *85*, 576-592. m) Gabr, M. T.; El-Gohary, N. S.; El-Bendary, E. R. El-Kerdawy, M. M. New series of benzothiazole and pyrimido[2,1-b]benzothiazole derivatives: synthesis, antitumor activity, EGFR tyrosine kinase inhibitory activity and molecular modeling studies *Med. Chem. Res.* **2015**, *24*, 860–878.
8. Deshmukh1, V.K.; Raviprasad , P.; Kulkarni, P.A.; Kuberkar, S.V. Design, Synthesis and Biological Activities of Novel 4H-Pyrimido [2, 1-b] [1,3] Benzothiazole derivatives *Int. J. Chem. Tech. Res.* **2011**, *3*, 136-142.
9. Munirajasekhar, D.; Himaja, M.; Sunil, V. M. Synthesis and anthelmintic activity of 2-amino-6-substituted benzothiazoles *Int. Res. J. Pharm.* **2011**, *2*, 114-117. b) Suresh, Ch.; Rao, J. V.; Jayaveera, K. N.; Subudhi, S. K. Synthesis and anthelmintic activity of 3-(2-hydrazinobenzothiazoles)-substituted indole-2-one *Int. Res. J. Pharm.* **2011**, *2*, 257-261. c) Balaji, P.N.; Ranganayakulu D.; Yadav K.R.; Jayamma1 , J.; Kumar, S.; Sivaramaiah, C. Anthelmintic and Anti-microbial activities of synthesized heterocyclic pyrazole and its

- derivatives from fluoro substituted hydrazino benzothiazole *Int. J. Pharm.Tech. Res.* **2014**, 6, 1970-1975.
10. Joseph, J. and Janaki, G. B. Synthesis, structural characterization and biological studies of copper complexes with 2-aminobenzothiazole derivatives, *J. Mater. Environ. Sci.* **2014**, 5, 693-704. b) Reddy, D. Sankar, R. et al, Synthesis, analytical characterization, antimicrobial, anti-oxidant and anti-convulsant evaluation of some novel 6-fluorobenzothiazole substituted pyrazole analogues *Int. J. Pharm. Chem.* **2013**, 3, 72-81. c) Yardily and Reji, T.F. A. F. Antioxidant potential of novel 2-(4-amino-2-arylaminothiazol-5-oyl) benzothiazoles, *Int. J. Pharm. Bio. Sci.* **2014**, 5, 74-79. d) Chaudhary, P.; Sharma, P. K.; Sharma, A.; Varshneyrecent, J. Advances in Pharmacological Activity of Benzothiazole Derivatives *Int. J. Curr. Pharm. Res.* **2010**, 2, 5-11.
 11. Nessim, M. I.;Ahmed, M. H. M.; Ali A. M. B; Salem, A. A. and Attia, S. K. The effect of some benzothiazole derivatives as antioxidants for base stock *Int. J. Curr. Res.* **2013**, 5, 111-1113. b) Choudhary, S.; Kini, S. G., and Mubeen, M. Antioxidant activity of novel coumarin substituted benzothiazole derivatives *Der Pharm. Chem.* **2013**, 5, 213-222. c) Yadav, A. G.; Patil, V.N.; Asrondkar, A.L.; Naik, A.A.; Ansulkar, P.V.; Bobade, A.S. and Chowdhary, A.S. Anti-oxidant and anti-microbial activities of pyrazolyl-benzothiazole derivatives using Vilsmeier-Haack reaction *Rayazan J. Chem.* **2012**, 5, 117-120.
 12. Raju, G. N.; Karumudi, B. S.; Rao, N. R. Benzothiazole-Versatile heterocyclic nucleus in medicinal chemistry: A review *Int. J. Pharm. Chem.* **2015**, 5, 104-114. b) Keri, R. S.; Patil, M. R.; Patil, S. A.; Budagumpi, S. A comprehensive review in current developments of benzothiazole based molecules in medicinal chemistry *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, 89, 207-251.

PRIMERA APROXIMACIÓN AL ESTUDIO DEL CRECIMIENTO ESTACIONAL DE *ZONARIA TOURNEFORTII* (PHAEOPHYCEAE, DICTYOTALES) EN ISLA ROQUETA, ACAPULCO GUERRERO, MÉXICO.

Montserrat Dolores Ortiz López, Graciela De Lara Isassi, Fernando González Cisneros, Ricardo Campos Verdusco

Departamento de Hidrobiología. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa¹

RESUMEN

Se presenta la primera aproximación al estudio del crecimiento estacional de la macroalga *Zonaria tournefortii* en Isla Roqueta de la Bahía de Acapulco, Guerrero, México. Dicho estudio se basa en la comparación de la presencia y ausencia de esta macroalga en diferentes estaciones climáticas (verano-otoño e invierno) de los años 2016-2017. También se aporta una detallada descripción de su: a) morfología utilizando como base muestras con diferencias de tamaño en los talos en las diferentes temporadas, b) anatomía y c) estructuras reproductivas. Se espera encontrar diferencias morfológicas y anatómicas, que presenten relación con alguna variación estacional, esto porque en los muestreos realizados hasta la fecha, se han encontrado diferencias tanto en la abundancia de talos como en las dimensiones de estos; encontrándose en mayores cantidades en las colectas de verano-otoño a diferencia de las colectas realizadas en invierno.

Palabras clave: anatomía, morfología, variación, *Zonaria tournefortii*.

INTRODUCCION

La gran diversidad del bentos comúnmente está localizada en las costas rocosas. Isla Roqueta situada en Acapulco Guerrero México. no es la excepción, ya que presenta características climáticas favorables que definen a una isla tropical, esta localizada en la bahía de Santa Lucía en Acapulco Guerrero México, colinda con las playas de Caleta y Caletilla. Aproximadamente tiene una longitud de 150

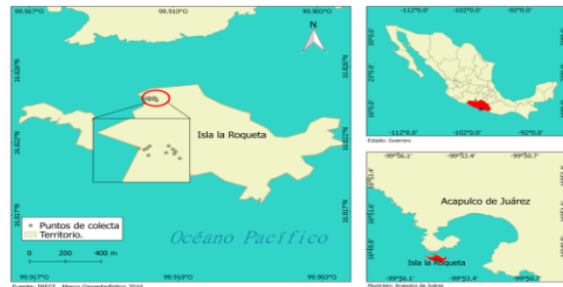


Figura1. Mapa de zona de colecta

metros de Este a Oeste y una altura promedio de 107 metros. Como casi todas las playas de Acapulco Guerrero, Isla roqueta presenta un clima cálido húmedo, con temperaturas que van desde los 28°C hasta 37°C la mayor parte del año.

Otra de las características esenciales que hacen destacables a las especies que pertenecen al orden de las Dictyotales es su gran distribución en aguas tropicales y subtropicales, particularmente especies como: *Dictyota*, *Lobophora* y *Zonaria*, (Ballesteros, 1993; Díaz-Pulido & Garzón-Ferreira, 2002; De Clerck *et al.*, 2006; Bittner *et al.*, 2008; Sansón *et al.*, 2009; Sangil *et al.*, 2011c).

Las macroalgas pardas, que forman parte importante de la división Heterokontophyta, de la clase Phaeophyceae y también son conocidas como algas pardas, estas macroalgas se pueden reconocer con facilidad, ya que como característica principal, presentan tonalidades que van desde el pardo oscuro o marrón hasta el verde olivo Guiry & Guiry, 2015).

Cabe señalar que esta coloración se debe a que las algas contienen pigmentos como la clorofila a y c, beta carotenos y fucoxantina, estos pigmentos fotosintéticos cuya coloración oscila entre amarillo y rojo, son los principales agentes encargados de realizar el proceso de fotosíntesis, proceso que se lleva a cabo en su ciclo de vida (Chapman & Chapman, 1980). Estas macroalgas

marinas son considerados organismos que pertenecen a los órdenes de las fucales y laminariales, predominan en los ambientes rocosos (Dayton, 1985; Schiel & Foster 1986).

El registro mundial indica que hasta el año 2014 existen poco más de 2000 especies, las cuales se agrupan en 18 órdenes (Silberfeld *et al.*, 2014), y las que más destacan son las del orden Ectocarpales con aproximadamente 785 especies, las del orden Fucales con 589 especies, las Dictyotales con 267 especies, por último todas aquellas que se incluyen en el orden Laminariales, 145 especies y que en su totalidad conforman más del 80% de las algas cafés (Guiry & Guiry, 2015).

En nuestro país, para este grupo se tiene un registro con aproximadamente 55 géneros y 300 especies existentes. Cabe señalar que son varios los estudios ficoflorísticos realizados en las costas mexicanas, pero es importante mencionar que es poca información acerca de las algas existentes en la costa de Acapulco, Guerrero, principalmente en Isla Roqueta (Guiry & Guiry, 2015).

Zonaria tournefortii; es una especie de macroalga incluida en el orden de las *Dictyotales*, y su morfología se caracteriza porque sus organismos presentan talos erectos los cuales contienen laminarina como sustancia de reserva, estos talos, se fijan al sustrato gracias a que presentan un sistema rizoidal, crecen de manera apical lo cual provoca que el talo este formado por una sola célula, sin descartar que también pueda estar formado por una sola fila de células marginales, sin embargo pueden presentarse casos en los que exista la posibilidad de que estas a su vez estén conformadas por células pseudoparenquimatosas incluyendo la presencia de filamentos (Womersley 1987, De Clerck *et al.*, 2006). Es importante mencionar los diferentes tipos de frondas que existen para esta especie una es la forma flabelar (en forma de abanico) o bien en forma de espátula (Womersley 1987, De Clerck *et al.*, 2006).

PARTE EXPERIMENTAL

Para este trabajo, como primera actividad se observó el área de colecta, posteriormente se tomaron fotografías del sitio, para tener un registro en cuanto a la presencia o ausencia de la ficoflora presente en Isla Roqueta y así tener el material necesario para luego poder hacer comparaciones y posteriormente registrarlos en los resultados.

El material ficológico se obtuvo realizando colectas en la localidad de Acapulco Guerrero México, Isla Roqueta (16.49 453° N, 099.54679° O). Los muestreos y observaciones se realizaron en diferentes estaciones climáticas: 20 de junio de 2016: verano, el 22 de octubre de 2016: otoño y el 5 de febrero de 2017: invierno.

Las colectas se hicieron de forma manual, haciendo uso de una espátula para tomar muestras; las muestras de los talos los cuales se lavaron de manera directa con agua de mar, con el fin de retirar la mayor cantidad de sedimento presente principalmente en el pie de fijación, posteriormente las muestras se depositaron en bolsas Ziploc con poca agua. A cada muestra se le asignó el número de ejemplar correspondiente a la estación y la fecha en la que fueron colectadas, todas las muestras se preservaron en una hielera manteniéndola a una temperatura de 5°C. Según la metodología de Florez-Leiva, 2010. Para lograr mantener las muestras en estado favorable estas se depositaron en un congelador, manteniendo una temperatura de -20°C, así hasta el día en que fueron procesadas. El proceso de descongelación para el material biológico se realizó de manera gradual, depositando cada una de las muestras en cristalizadores.

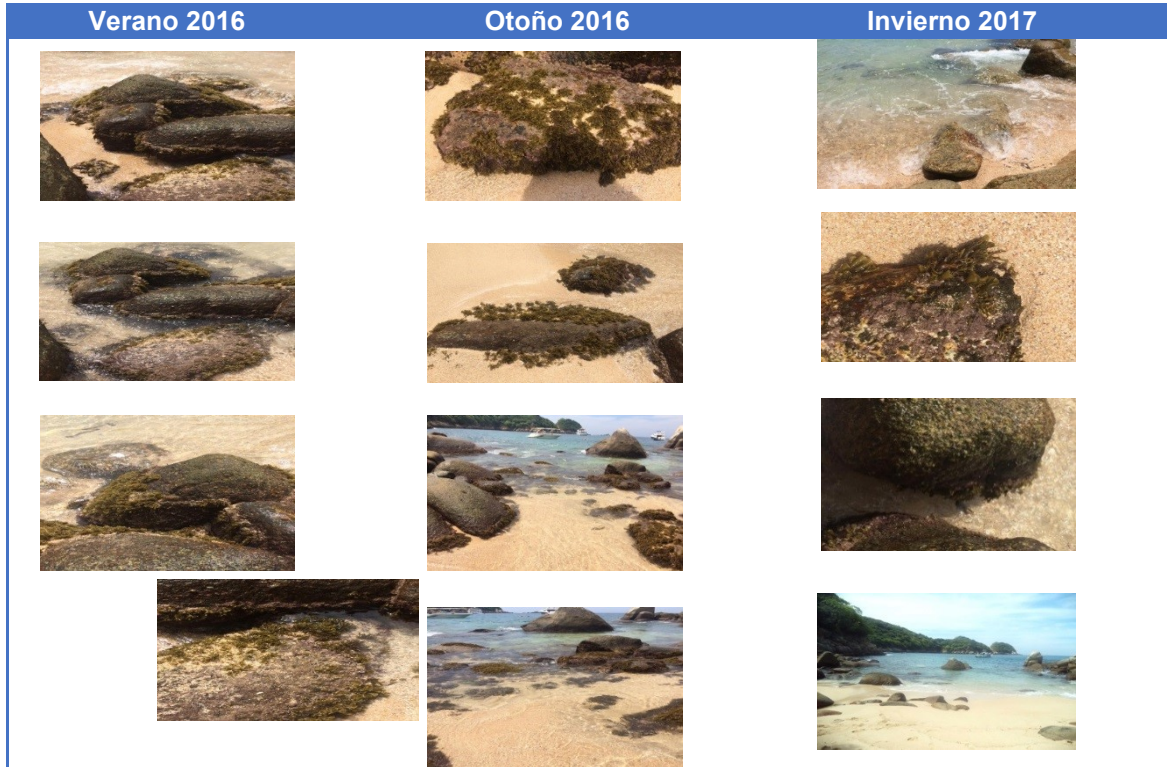
El proceso de descongelación fue de manera paulatina, colocando las muestras en cristalizadores de 500 ml de capacidad, y ya que estuvieron descongeladas se lavaron con agua del grifo, con el objetivo de eliminar en su totalidad los organismos asociados a los talos, cada uno de los cuales se revisó bajo el microscopio.

Para la observación y descripción histológica, parte del material biológico se observó en un microscopio de disección, posteriormente se realizaron cortes a mano, y se observaron en un microscopio óptico.

Otra parte del material biológico se eligió material biológico, el cual se utilizó para la preparación de material de herbario siguiendo la metodología de Florez-Leiva, 2010.

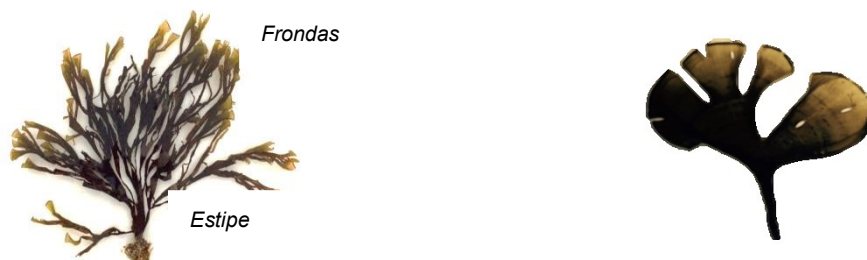
RESULTADOS

En la siguiente tabla se muestran resultados de las observaciones, realizadas en el área de colecta, cabe señalar que haciendo una comparación de las tres fechas en las que se colecto, la temporada que menos registro crecimiento de macroalgas, específicamente *Zonaria tournefortii* fue en invierno de 2017 la cual indico características distintas a las otras dos colectas, respecto a la temperatura (21°C), mientras que la colecta realizada en verano de 2016 la temperatura registrada fue de 34°C, esto nos refleja que es la temporada que presenta crecimiento de *Zonaria tournefortii* de manera regular, sin embargo en Otoño de 2016 que presento 31°C de temperatura, fue evidente la presencia de esta macroalga, como se observa en la tabla de imágenes.



II) Descripción detallada de la morfología de *Zonaria tournefortii*.

Anatomía: *Zonaria tournefortii*, presenta talos erectos flabelados y algunos son espatulados, miden de 5 a 10 cm de longitud, pero también hay registros de organismos que llegar a medir hasta de 25 cm de longitud, presentan un color pardo amarillento, debido a que los talos colectados son talos jóvenes, estos presentan iridiscencia y está presente en todo el talo, su textura es firme y membranosa, las láminas de los talos son lisas y onduladas, el estipe es reducido y en cuanto al sistema de fijación, está presente se une al sustrato por medio de una masa rizoidal, presentan una consistencia semirrígida, en cuanto a su textura es áspera y carnosa.

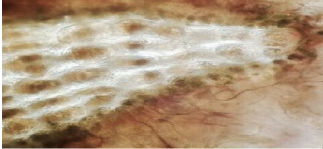
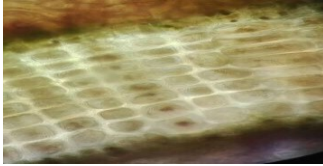
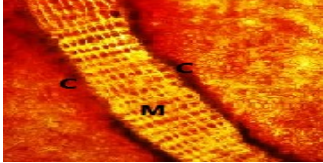
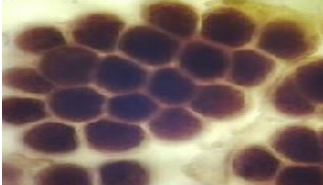


Pie de fijación

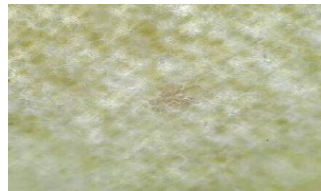
Fig 2. Talo de *Zonaria tournefortii*

Figura 3. Fronda de *Zonaria tournefortii*, en forma flabelar

En la siguiente tabla se describen y muestran los resultados histológicos de *Zonaria tournefortii*, los cuales se obtuvieron de la realización de cortes histológicos que posteriormente se observaron en un microscopio óptico.

Descripción	Resultados
Corte longitudinal del margen del talo, Se observa un aumento, en cuanto a número de células.	
Corte transversal del pie de fijación del talo, se observa la forma rectangular de las células medulares, las cuales tienen la capacidad de formar estratos celulares.	
Corte longitudinal de la porción media del talo en la que se distinguen tejidos con la misma función que la que realizan el córtex y la medula en algunas plantas.	
Soros (en etapa madura) los cuales están contenidos en el esporangio.	
Células rizoidales: Encargadas de acumular sustancias de reserva, y se distinguen presentar su forma alargada y tonalidad oscura en el centro. Están continuamente ramificadas.	
Vista superficial de los esporangios que presentan peculiaridad en cuanto a su forma, la cual indica que ya ha ocurrido el proceso meiótico, para que posteriormente se formen las esporas.	

Bandas de filamentos, las cuales son originadas por transformación de células corticales y terminan formando filamentos, se observan también células subcilíndricas diminutas y pigmentadas.



CONCLUSIONES

El trabajo presente es una aproximación inicial con la mira de realizar estudios relacionados con el desarrollo de macroalgas en México, empezando con la Isla Roqueta en Acapulco Guerrero, México, el cual es un sitio del que no se tienen algún registro informativo respecto a su estado ficoflorístico. Asimismo el artículo resalta la importancia de plantear metodologías que sean útiles para cuantificar y medir diversos elementos morfológicos en especies de ficoflora, con el objetivo de elaborar estudios más profundos en cuanto a la posible correlación de parámetros como tamaño, etapa de desarrollo y morfología de las especies estudiadas con la temporada estacional y otros parámetros (atmosféricos, fisiográficos, geográficos, etc.).

BIBLIOGRAFÍA

1. Ballesteros, E. 1993. Algunas observaciones sobre las comunidades de algas profundas en Lanzarote y Fuerteventura (Islas Canarias). *Vieraea*, 22, 16–25.
2. Chapman, V. J. & D. J. Chapman. 1980. *Seaweeds and their uses*, Chapman and Hall. London 334pp.
3. Dayton, P. K. 1985. Ecology of kelp communities. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 215–245.
4. L. Florez–Leiva, B. Enavio, M. Diaz-Ruiz, O. Camacho & G. Díaz Pulido, 2010. Recoleccion y Preservación de Macroalgas Marinas, Guía para estudios ficológicos: 100-102
5. Guiry, M. 2001. Plants. In M. J. Costello, C. Emblow, & R. White (Eds.), *European register of marine species: a check-list of the marine species in Europe and a bibliography of guides to their identification*: 20–39. Paris. Muséum National d’Histoire Naturelle.
6. Womersley, H. B. S. 1987. *The marine benthic flora of Southern Australia. Pt. II*, 481pp. Adelaide: South Australian Government Printing Division.

DETERMINACIÓN DE MIELOPEROXIDASA EN UN MODELO MÚRIDO POSTERIOR A LA APLICACIÓN TÓPICA DE UN GEL A BASE DE EXTRACTO DE CHILCUAGUE

Carolina Escobedo-Martínez, Silvia Laura Guzmán-Gutiérrez, Verónica Morales-Arias, Martha Alicia Deveze-Álvarez, Alfonso Trujillo-Valdivia¹ y Ricardo Reyes Chilpa

Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas. c.escobedo@ugto.mx
Catedrática CONACyT. Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.
Instituto de Química, UNAM.

RESUMEN

Heliopsis longipes (A. Gray) S.F. Blake, es una hierba perenne perteneciente a la tribu Heliantheae de la familia Asteraceae y mejor conocida comúnmente como chilcuague. Tiene una larga tradición en la herbolaria indígena como lo indican sus denominaciones de origen náhuatl, caracterizada por su alto contenido de alcaloides en sus raíces, siendo la afinina la alcaloide mayoritaria aislada y a quien se le ha atribuido la responsabilidad de los efectos biológicos observados, entre los que se destaca principalmente, la acción anestésica local, analgésica, antiinflamatoria y antinociceptiva. Tomando como referencia estas actividades biológicas se desarrolló una formulación farmacéutica en gel de fase cúbica de liberación transdérmica controlada utilizando como principio activo el extracto etanólico de las raíces de *Heliopsis longipes*, el cuál contuvo a la afinina como metabolito mayoritario en un 95 %. La formulación de gel se realizó para tres cantidades diferentes de extracto: 45.26, 136.84 y 408.42 mg por cada 10 g de gel de fase cúbica. A cada gel se le realizaron mediciones de estabilidad física, ensayos de irritabilidad en piel de conejos, evaluación de la capacidad del gel de fase cúbica para liberar el principio activo de manera controlada mediante un estudio por espectrofotometría UV-Vis y evaluación de la actividad antiinflamatoria mediante el modelo biológico de formación de edema auricular de ratón inducido por 13-acetato-12-O-tetradecanoilforbol (TPA). Los resultados de la actividad antiinflamatoria para las tres concentraciones evaluadas (0.13, 0.76 y 1.67 mg de extracto/oreja), incluyendo la indometacina como fármaco referencia mostraron una disminución significativa del peso del edema auricular de ratón con respecto al edema inducido por TPA del grupo control. A su vez, se realizó la cuantificación de la enzima Mieloperoxidasa como biomarcador de la inflamación obteniéndose que a medida que aumenta la concentración del extracto etanólico en el gel de fase cúbica aumenta también el porcentaje de inhibición de dicha enzima; la cuantificación de la Mieloperoxidasa es importante debido a que esta enzima se encuentra dentro de los fagosomas de los neutrófilos (PMN) que a su vez son la primera línea de defensa al momento de un proceso de inflamación aguda.

INTRODUCCIÓN

México es uno de los países más diversos en recursos naturales cuyas características topográficas de altitud y latitud han originado una gran biodiversidad florística estimada en 36000 especies de plantas (Rzedowskii, 1992). De este total, al menos 7000 especies son nativas y se emplean con fines medicinales, ornamentales o alimenticios, y se han determinado en la actualidad cerca de 3500 especies utilizadas en la medicina tradicional (Bye *et al.*, 1991).

Heliopsis longipes (A. Gray) S.F. Blake, localizada en las regiones conformadas por porciones donde coinciden parte de los estados de San Luis Potosí, Guanajuato y Querétaro, es una hierba perenne (Cilia-López, 2008), perteneciente a la tribu Heliantheae de la familia Asteraceae y mejor conocida comúnmente como chilcuague tiene una larga tradición en la herbolaria indígena como lo indican sus denominaciones de origen náhuatl, caracterizada por su alto contenido de alcaloides en sus raíces, y siendo la afinina la alcaloide mayoritaria aislada de sus raíces y a quien se le ha atribuido la responsabilidad de los efectos biológicos observados, entre los que se pueden

considerar principalmente la acción de anestésica local (García-Chávez, 2004), analgésica (Ríos, 2007, Cilia-López, 2010), antiinflamatoria (Hernández, 2009), y antinociceptiva (Cariño-Cortés, 2010).

Con base en las actividades biológicas citadas anteriormente, el objetivo principal de esta investigación ha sido desarrollar una formulación farmacéutica de gel de fase cúbica de liberación transdérmica controlada utilizando como principio activo el extracto etanólico de las raíces de *Heliopsis longipes* (A. Gray) S.F. Blake.

Una fase cúbica es un sistema termodinámicamente estable que favorece la penetración de un principio activo a la piel, permitiendo una liberación prolongada. Este sistema tiene la ventaja de poder integrar diferentes agentes que van desde medicamentos con peso molecular bajo hasta proteínas, péptidos, aminoácidos y ácidos nucleicos.

El desarrollo de formulaciones farmacéuticas transdérmicas de liberación controlada han sido poco estudiadas para su uso como vehículo de principios activos como el caso del Chilcuague. En esta investigación hemos buscado integrar la innovación de las fases cúbicas en una formulación farmacéutica tópica utilizando un principio activo con una amplia variedad de efectos terapéuticos.

Para el desarrollo de este proyecto se realizó un gel de fase cúbica con características físicas y organolépticas adecuadas que contenga extracto de chilcuague. Se evaluó la estabilidad física y se realizaron ensayos de irritabilidad en piel de conejos. Así mismo, se evaluó la capacidad del gel de fase cúbica para liberar el principio activo de manera controlada mediante espectrofotometría UV-Visible y se midió la actividad antiinflamatoria del mismo utilizando el modelo biológico de edema auricular de ratón inducido por TPA.

La mieloperoxidasa (MPO) es una enzima abundante en las células mieloides, particularmente en los neutrófilos, y en menor grado en los monocitos y macrófagos tisulares. La MPO juega un papel importante en la defensa del huésped contra las bacterias y los virus. Históricamente se ha considerado el componente más importante en el proceso inflamatorio. Actualmente se usa como marcador biológico clave en los diferentes campos de la cardiología, oncología, enfermedades crónicas degenerativas y autoinmunes (Ikitimur y Karadag, 2010).

TEORÍA

GEL DE FASE CÚBICA.

Luo y colaboradores (2011), definen un gel cúbico como aquel sistema que está formado espontáneamente cuando lípidos anfipáticos se encuentran en un ambiente acuoso. Un gel cúbico consiste de una bicapa lipídica bicontinua curva y tiene una estructura termodinámicamente estable, ejemplo es el sistema monooleato de glicerilo y agua. Ellos pueden incorporar moléculas pequeñas de medicamentos y grandes proteínas, y tienen la habilidad de mejorar la permeabilidad. El gel de fase cúbica es transparente pero rígido y viscoso, lo cual limita su uso potencial como sistema de suministro (Shah *et al.*, 2001). Sin embargo, un gel de fase cúbica con menor viscosidad se puede obtener mediante la adición de disolventes orgánicos (por ejemplo, propilenglicol (PG), etanol, polietilenglicol, y N-metil-2 pirrolidona) (Chang *et al.*, 1998, Wadsten *et al.*, 2007). Chang y colaboradores, realizaron la incorporación de PG por dos razones: El PG podría disminuir la viscosidad de la fase cúbica del gel y el PG es bien conocido como potenciador de la penetración en piel y se utiliza comúnmente como aditivo en formulaciones tópicas (Chang *et al.*, 1998, Wadsten *et al.*, 2007). Como el espesor de la bicapa lipídica es aproximadamente 3.5 nm y el diámetro del canal de agua es aproximadamente 5 nm (Hide *et al.*, 1984), la fase cúbica puede ser considerada como un material suave nanoestructural (Bender *et al.*, 2005).

HELIOPSIS LONGIPES (CHILCUAGUE).

Heliopsis longipes S.F. Blake es una hierba perenne endémica de la región conformada por porciones de la Sierra de Álvarez y la Sierra Gorda, donde coinciden parte de los Estados de San Luis Potosí, Guanajuato y Querétaro (Little, 1948). En estas regiones de Guanajuato y de Querétaro se ha iniciado el cultivo de chilcuague que se lleva a cabo en forma limitada en las orillas de las parcelas o en la sombra de algunos árboles, en lugares protegidos del pastoreo, aunque a la fecha ya es posible observar terrenos dedicados completamente a plantíos de esta

especie. Las personas que lo cultivan indican que a partir de la propagación por esqueje, y en algunos casos por semilla, el desarrollo total de las raíces transcurre en dos a tres años. Los nombres comunes de esta planta son chilcuague, pelitre, raíz de oro y raíz azteca (Ramírez, 1902; Santamaría, 1959; Martínez, 1967). El uso del chilcuague ha implicado la destrucción total de la planta por lo que las poblaciones de esta especie han disminuido, desapareciendo en algunas zonas (Little, 1948b; Molina-Torres y García-Chávez). Por fortuna el chilcuague no se ha extinguido a la fecha por la euforia de su exportación, a pesar de que la población silvestre se vio severamente reducida.

AFININA, METABOLITO SECUNDARIO MAYORITARIO PRESENTE EN LAS RAÍCES DE HELIOPSIS LONGIPES.

La raíz de oro contiene un compuesto insaturado al que denominaron afinina y se aisló en el año de 1945 por Acre, Jacobson y Haller.

La afinina se describe como un aceite amarillo, viscoso soluble en disolventes no polares (cloroformo, éter, benceno, etc.) y prácticamente insolubles en soluciones ácidas y alcalinas. Tiene una banda de adsorción máxima de 228.5 nm con un punto de ebullición de 114°C a 0.2mm Hg de presión, y un punto de fusión de 23°C, su peso molecular es de 221.33. La afinina está compuesta por 75.96% de carbono, un 10.47% de hidrógeno, 33% de nitrógeno y 7.235% de nitrógeno (Merck, 1983).

Little (1948) reportó que la raíz molida y mezclada con leche se utilizaba para matar a las moscas que la bebían. La acción insecticida del chilcuague es atribuida a la afinina, que Domínguez *et al.*, (1958) comprobó al evaluar este metabolito secundario contra el gorgojo del frijol *Acanthoscelides obtectus* Say.

Ivones Hernández *et al.*, (2008) reportó el efecto de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico y la afinina, realizado a través del edema en oreja de ratón por medio de dos agentes irritantes, el ácido araquidónico (AA) y el miristato aceto de forbol (PMA), mostrando un marcado efecto antiinflamatorio sobre el modelo AA con una ED₅₀=0.8 y 1.2 mg/oreja respectivamente, utilizó Nimesulida (1mg/oreja) como fármaco referencia. En el modelo PMA, el extracto etanólico y la afinina mostraron un efecto antiinflamatorio dosis dependiente con una DE₅₀=2.0 y 1.3 mg/oreja, respectivamente, utilizando indometacina (3mg/oreja) como fármaco referencia.

Cariño-Cortés *et al.*, (2010) mostró evidencia de que tanto el extracto etanólico de *Heliopsis longipes* ejerció efectos analgésicos, así como sin efectos citotóxicos realizados sobre eritrocitos de sangre periférica en ratón CD1+ *in vivo*, esto se convierte en una contribución importante para explicar el uso de la raíz como un analgésico efectivo utilizado en la medicina tradicional, así como el establecimiento por primera vez de la ausencia de efecto tóxico, después de realizar estudios histopatológicos y encontrar que a dosis de 1000 mg/kg (dosis mayor que la dosis ingerida como condimento, analgésico, antiinflamatorio dental o utilizado en otras patologías humanas) no se presentaron daños o cambios histopatológicos en cerebro, hígado y corazón.

CÉLULAS QUE PARTICIPAN EN EL PROCESO INFLAMATORIO.

Existen dos tipos de células implicadas en el proceso inflamatorio, unas que se encuentran en forma permanente en los tejidos, como son los mastocitos y las células endoteliales, y otras que pueden migrar y acceden al sitio afectado desde la sangre, como son los neutrófilos polimorfo nucleares (PMNs), monocitos, macrófagos y linfocitos. Estas células producen una gran cantidad de moléculas activas que, de manera directa o indirecta, son mediadores del proceso inflamatorio. (Kumar *et al* 2009).

ENZIMA MIELOPEROXIDASA COMO BIOMARCADOR DE LA INFLAMACIÓN.

Durante el proceso de inflamación es esencial el papel de los leucocitos polimorfonucleares (PMNs), que son las células leucocitarias predominantes en la inflamación aguda y las primeras células móviles en llegar al área afectada. Los PMNs se adhieren a las células epiteliales y atraviesan la pared de los vasos sanguíneos atraídos por factores quimiotácticos para desgranular-liberar enzimas que degradan el agente invasor (W. Rojas, 1996).

Los neutrófilos desempeñan papeles normales o de defensa en los procesos inflamatorios, o anormales en alergias o enfermedades autoinmunes. Se ha propuesto que la excesiva actividad mieloperoxidasa y elastasa, así como las especies de oxígeno reactivas, están implicadas directamente en el daño tisular (J. Smith, 1994).

La mieloperoxidasa (MPO) es una enzima lisosomal que se almacena principalmente en los gránulos azurófilos de los neutrófilos polimorfonucleares humanos. La MPO se libera en vacuolas fagocíticas durante la activación celular y su grado de actividad está directamente relacionado con la concentración de neutrófilos en el tejido inflamado; por lo que la medición de esta actividad enzimática ha sido considerada un sensible marcador cuantitativo de la quimiotaxis y de la infiltración de neutrófilos en el proceso inflamatorio, también es considerada como un indicativo de estrés oxidativo (H. Cheng *et al.*, 2006).

PARTE EXPERIMENTAL

A) PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO.

El extracto etanólico de *Heliopsis longipes* se elaboró con las raíces secas y molidas de esta planta colectada. Para obtenerlo, se pesaron 298,6 g de las raíces secas y molidas a la que se les añadieron 514 mL de alcohol etílico absoluto anhidro, dejando la solución en maceración a temperatura ambiente durante 30 días. El macerado se filtró con un papel filtro Whatman No. 4 y se concentró en rotavapor (BUCHI). En el extracto fue detectada la molécula de afinina a través del registro de sus espectros de 1H y 13C mediante Resonancia Magnética Nuclear.

B) PROCEDIMIENTO DE MANUFACTURA PARA LOS GELES EN FASE CÚBICA A PROPORCIONES DE 45:45:10 PROPILENGLICOL: MONOOLEATO DE GLICERILO: AGUA CON EL EXTRACTO ETANÓLICO DE HELIOPSIS LONGIPES COMO PRINCIPIO ACTIVO.

Se pesaron (1) y (2) en recipientes separados (Ver tabla I). Esto con objeto de calentar (2) en baño María a temperatura de 45°C. Una vez fundido se adicionó (4, una concentración para cada gel). Se agitó constantemente con una varilla de vidrio manteniendo una temperatura entre los 45°C y 50°C, obteniéndose la mezcla (A).

Por otro lado, en un recipiente de acero inoxidable se calentó (1) en baño María a 45 °C. Se agregó a (A) y se agitó durante 10 minutos con varilla de vidrio para permitir que se homogenizará la mezcla (B). Ésta se retiró del calentamiento y se continuó agitando hasta la formación de una emulsion (C).

A continuación se adicionó (3) a (B), previamente calentando a 30 °C y se continuó agitando constantemente hasta tener la consistencia deseada del gel. Finalmente se acondicionó en un frasco de vidrio rotulado y sellado.

El mismo procedimiento se realizó para las tres concentraciones: 45.26 mg, 136.84 mg y 408.42 mg localizadas en (4). Además de realizar la formulación placebo.

Tabla I. Formulación de geles en fase cúbica con extracto etanólico de *Heliopsis longipes*.

No.	MATERIA PRIMA	CANTIDAD UNITARIA	UNIDAD	FUNCIÓN
1	Propilenglicol	4.5	g	Emulsificante
2	Monooleato de glicerilo	4.5	g	Fase oleosa
3	Agua	1	mL	Formador de la fase cúbica
4	Extracto etanólico de <i>Heliopsis longipes</i>	45.26 (Concentración 1) 136.84 (Concentración 2) 408.42 (Concentración 3)	mg	Principio activo

C) ANÁLISIS DEL PRODUCTO TERMINADO POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN DE FASE REVERSA.

Esta prueba se realizó para comprobar que en los geles de fase cúbica con extracto etanólico de *Heliopsis longipes* como principio activo se encontraba en su contenido la alcalamida mayoritaria N-isobutil-decatrien, 2E, 6Z, 8E- amida, "Afinina". Para ello fueron analizadas las muestras en HPLC marca Waters, donde cada muestra fue inyectada en una columna Kromasil 100-5 C18 de 15 cm de largo x 4.6mm de diámetro interno.

Para la elución de las muestras se utilizó un método de gradiente agua (A), acetonitrilo (B), con un tiempo de corrida de 35 min a un flujo de 1 mL min⁻¹. Con la ayuda de un software Breeze se confirmó la presencia de la afinina a los 230 nm.

D) EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LA FORMULACIÓN EN GEL DE FASE CÚBICA A BASE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HELIOPSIS LONGIPES SOBRE UN MODELO BIOLÓGICO DE INFLAMACIÓN AGUDA EN EDEMA AURICULAR DE RATÓN INDUCIDO POR 13-ACETATO-12-O-TETRADECAINOLFORBOL (TPA).

La evaluación antiinflamatoria se realizó tanto en el gel en fase cúbica placebo y en los geles de fase cúbica a las siguientes concentraciones de extracto etanólico de *Heliopsis longipes*: 0.13, 0.76 y 1.67 mg/oreja. El fármaco de referencia empleado fue la indometacina a una dosis de 0.36 mg/oreja.

Se emplearon ratones CD-1 machos, de entre 25 a 30 g de peso. Los animales (n=6) fueron mantenidos en condiciones estándar de fotoperiodo (12 h luz/ 12 h oscuridad) a una temperatura de 19 – 23°C, humedad relativa de 45-55%, suministro de aire filtrado, agua ozonizada baja en sales y alimento de importación de Purina Lab Diet fórmula 5001.

1. Los ratones fueron divididos en 5 grupos de 6 ratones cada uno y se colocaron en jaulas diferentes. Los grupos correspondieron al siguiente tratamiento: Grupo 1. Control tratado solamente con TPA. Grupo 2. Grupo tratado con TPA e indometacina 0.36 mg/oreja. Grupo 3. Grupo tratado con TPA y gel de fase cúbica con 0.13 mg/oreja de extracto etanólico de *Heliopsis longipes*. Grupo 4. Grupo tratado con TPA y gel de fase cúbica con 0.76 mg de extracto etanólico de *Heliopsis longipes*. Grupo 5. Grupo tratado con TPA y gel de fase cúbica con 1.67 mg de extracto etanólico de *Heliopsis longipes*.
2. Los ratones fueron anestesiados con una solución de pentobarbital sódico (23.2 mg/Kg, vía i.p).
 - A los ratones del grupo 1 se les aplicó en la oreja derecha (tratada) 10 µg solución de TPA al 2.5 % con dos aplicaciones de 5 µL en cada superficie (interna y externa) del pabellón auricular derecho y en la oreja izquierda (no tratada) sólo se colocaron 10 µL de etanol (vehículo del TPA) con dos aplicaciones de 5 µL en cada superficie (interna y externa) del pabellón auricular izquierdo.
 - A los ratones del grupo 2 se les aplicó en la oreja derecha (tratada) 10 µg solución de TPA al 2.5% con dos aplicaciones de 5 µL en cada superficie (interna y externa) del pabellón auricular derecho, así como, 0.36 mg de indometacina con dos aplicaciones de 0.18 mL en cada superficie (interna y externa) del pabellón auricular y en la oreja izquierda (no tratada) sólo se colocaron 10 µL de etanol con dos aplicaciones de 5 µL en cada superficie (interna y externa) del pabellón auricular izquierdo. Este mismo procedimiento se realizó a los ratones del grupo 3, 4 y 5 para las aplicaciones de 20 µg de gel en fase cúbica que corresponderían a 0.13 mg, 0.76 mg y 1.67 mg, respectivamente, en vez de indometacina.
 - Cuatro horas después del tratamiento, los animales se sacrificaron en una cámara de CO₂ para tomar una muestra de ambas orejas con el sacabocado del centro del pabellón (diámetro aproximado 7 mm), y se determinó el peso (expresado en mg) mediante una balanza analítica.

Los porcentajes de inflamación y de inhibición fueron calculados con las siguientes ecuaciones (Swartz, 2011):

Inhibición del edema= C-E

En donde:

C= Edema del grupo control expresado en mg (tratado con TPA)

E= Edema del grupo experimental expresado en mg (TPA mas el compuesto)

Finalmente se realizó un análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba de Tukey con los valores obtenidos de edema.

E) ACTIVIDAD DE LA ENZIMA MIELOPEROXIDASA (MPO) POR EL MÉTODO DE TMB (3,3',5,5'-TETRAMETILBENZIDINA), SEGÚN LOS PROTOCOLOS DE SUZUKI Y BRADLEY.

Se midió la presencia de la enzima mieloperoxidasa en los edemas auriculares obtenidos durante la evaluación de la actividad antiinflamatoria de la formulación en gel de fase cúbica a base del extracto etanólico de *Heliopsis longipes* inducido por 13-acetato-12-o-tetradecainolforbol (TPA).

1. Se colocó la muestra de oreja congelada en un tubo de vidrio de 5 mL con hexadeciltrimetilbromuro de amonio (HTAB) al 0.5% y se homogenizó durante 30 segundos a 25,000 rpm.
2. La muestra fue sometida a 3 periodos de congelamiento y descongelamiento para asegurar un rompimiento del tejido.
3. En el último periodo de descongelamiento se sonificó la muestra durante 20 segundos para no dañar la proteína por la vibración.
4. Se centrifugó la muestra durante 5 minutos a 12,000 rpm a 4° C.
5. Se tomaron 10 µL de sobrenadante por cuadruplicado y se colocaron en pozos de una placa de 96 pozos.
6. Se añadieron 180 µL de tampón de fosfato alcalino (PBS) 80 mM, pH= 5,4 sin HTAB. Se calentó la placa a 37° C manteniendo esa temperatura durante lo que restaba el ensayo.
7. Se agregaron 20 µL de H₂O₂ al 0,0017%.
8. Se inició la reacción adicionando 20 µL de 3,3', 5,5'-tetrametilbencidina (TMB) 18.4 mM disuelto en N, N-dimetilformamida (DMF) al 50% y se incubó 5 minutos a 37° C con agitación suave.
9. Se detuvo la reacción agregando 20 µL de H₂SO₄ 2 M.
10. Se midió la densidad óptica a 450 nm. A mayor densidad óptica mayor cantidad de mieloperoxidasa y mayor porcentaje de inflamación en la muestra.

RESULTADOS

DETECCIÓN DE LA MOLÉCULA DE AFININA EN EL EXTRACTO ETANÓLICO DE HELIOPSIS LONGIPES MEDIANTE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN).

Se llevó a cabo la detección de la molécula de afinina en un extracto hexánico enriquecido que contenía entre un 97 – 98% de la misma. Al realizar la comparación del extracto etanólico de *Heliopsis longipes* con el extracto hexánico de *Heliopsis longipes* enriquecido en afinina (Figura 1) en un equipo Bruker Avance III HD de 400 MHz, se observó que tanto el extracto etanólico como el hexánico presentan la misma cantidad de afinina.

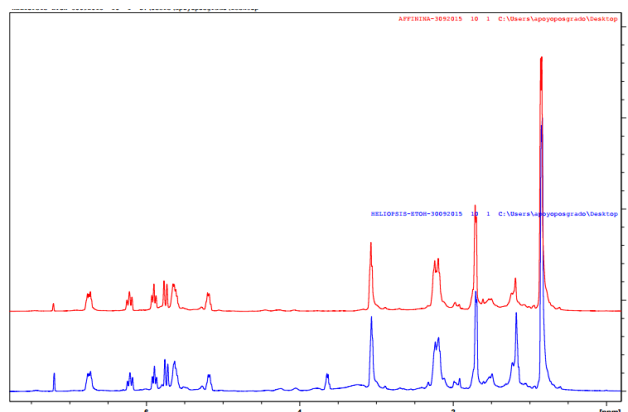


Figura 1. Comparación entre los espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 del extracto hexánico de *Heliopsis longipes* enriquecido en afinina (Rojo) y el extracto etanólico de *Heliopsis longipes* (Azul). Espectro adquirido en Bruker Avance III HD de 400 MHz.

PREPARACIÓN DEL GEL EN FASE CÚBICA CON EXTRACTO ETANÓLICO DE HELIOPSIS LONGIPES COMO PRINCIPIO ACTIVO

Para la realización de los geles en fase cúbica, el extracto etanólico de *Heliopsis longipes* se incorporó a la fase oleosa (MO). Durante el desarrollo de la formulación se integraron todos los componentes, obteniendo la consistencia deseada de un producto de uso tópico (Figura 2). A las formulaciones no se les añadió ningún conservador debido a que mostraron una buena estabilidad, además, por sí solo el extracto etanólico de *Heliopsis longipes* presenta actividad bactericida y fungicida.

Los tres geles presentaron características físicas y organolépticas muy aceptables: Brillantes, sensación al tacto suave, una evanescencia y consistencia aparente alta y no fueron viscosos, y con registro en la escala de pH entre 5 y 6 similar al de la piel.

Los geles presentan una buena estabilidad tanto a temperatura ambiente como a 5°C , así mismo, se logró la observación de que no existe crecimiento de agentes extraños en los mismos.

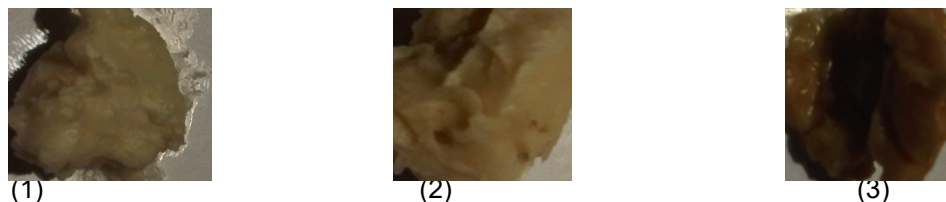


Figura 2. Geles en fase cúbica con extracto etanólico de *Heliopsis longipes* como principio activo. (1) 45.26 mg, (2) 136.84 mg y (3) 408.42 mg

ANÁLISIS DEL PRODUCTO TERMINADO POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN DE FASE REVERSA

Al analizar los cromatogramas después de la inyección de las soluciones que contenían los geles de fase cúbica de las distintas concentraciones de extracto etanólico de *Heliopsis longipes* como principio activo, se logró observar la presencia de la afinina a los 14 minutos (Figura 3).

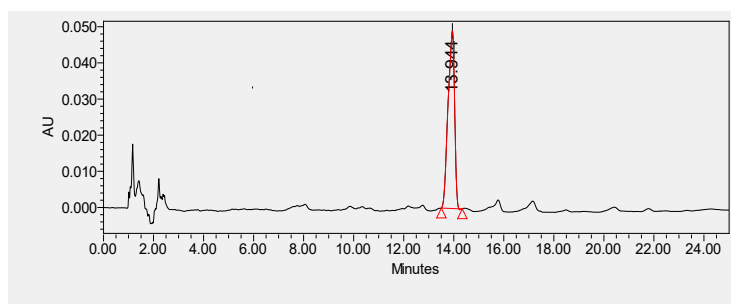


Figura 3. Cromatograma del gel en fase cúbica con 45.26 mg de extracto etanólico de *Heliopsis longipes* observado a 230 nm.

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LA FORMULACIÓN EN GEL DE FASE CÚBICA A BASE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HELIOPSIS LONGIPES SOBRE UN MODELO BIOLÓGICO DE INFLAMACIÓN AGUDA EN EDEMA AURICULAR DE RATÓN INDUCIDO POR 13-ACETATO-12-O-TETRADECAINOLFORBOL (TPA).

Obtenidos los pesos de los edemas auriculares de ratón para los distintos grupos se realizó un análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba de Tukey. La significancia estadística evaluada fue considerada $p < 0,05$, mostrando los geles de fase cúbica con extracto etanólico de *Heliopsis longipes* un efecto antiinflamatorio en el edema auricular de ratón inducido por TPA (Figura 5).

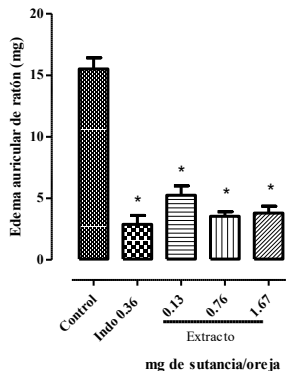


Figura 4. Efecto antiinflamatorio del gel de fase cúbica con extracto etanólico de *Heliopsis longipes* en edema auricular de ratón inducido por TPA. Indo = Indometacina. Cada barra representa el promedio \pm EEM (n=6). Los datos se analizaron con ANOVA seguida de una prueba de Tukey. * Estadísticamente diferente con respecto al control ($p < 0.05$).

ACTIVIDAD DE LA ENZIMA MIELOPEROXIDASA (MPO) POR EL MÉTODO DE TMB (3,3',5,5'-TETRAMETILBENZIDINA), SEGÚN LOS PROTOCOLOS DE SUZUKI Y BRADLEY.

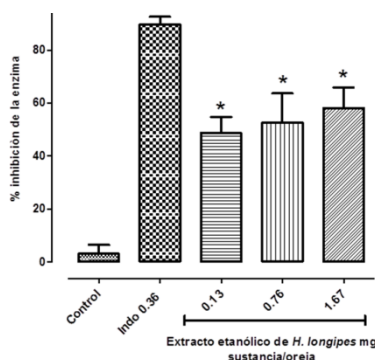


Figura 5. % de inhibición de la enzima MPO del extracto etanólico de *Heliopsis longipes* en edema auricular de ratón inducido por TPA. Control= TPA, Indo = Indometacina. Cada barra representa el promedio \pm EEM (n=6). Los datos se analizaron con ANOVA seguida de una prueba de Dunnet. * Estadísticamente diferente con respecto al control ($p < 0.05$).

CONCLUSIONES

Al término de esta investigación se logró desarrollar la formulación de un gel de fase cúbica de liberación transdérmica controlada con extracto etanólico de *Heliopsis longipes* como principio activo, presentando todas las características de una formulación farmacéutica de uso tópico: Estable, no irritante, no tóxica y con buenas propiedades físicas y organolépticas. Se comprobó que todos los geles de fase cúbica formulados a las tres concentraciones con excepción del placebo contuvieron el principio activo incorporado. Las distintas concentraciones de los geles presentaron actividad antiinflamatoria significativa en el modelo biológico del edema auricular de ratón, en comparación con el fármaco de referencia indometacina y a su vez, se corroboró que los

geles presentan una actividad antiinflamatoria mostrando las tres distintas concentraciones una inhibición de la enzima mieloperoxidasa generada durante el proceso de inflamación aguda.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bender, J., Ericson, M., Merclin, N., Lani, V.; Rosén A., Engström, S. 2005. Lipid cubic phases for improved topical drug delivery in photodynamic therapy. *J. Control Release*. 106: 350-360.
2. Bye, R., Estrada, L. E. y Linares, M. 1991. Recursos genéticos en plantas medicinales de México. In: *Avances en el estudio de los recursos fitogenéticos de México*. SOMEFI. Chapingo, México. 341-359 pp.
3. Cariño-Cortés, R. Gayosso-De-Lucio, J.A. Ortiz, N.I., Sánchez-Gutiérrez, M. García-Reyna, P.B., Cilia-López, V.G., Pérez-Hernández, N., Moreno, E. Poce-Monter, H. 2010. Antinociceptive, genotoxic and histopathological study of *Heliopsis longipes* S.F. Blake in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 130: 216-221.
4. Cilia-López, V.G., Aguirre-Rivera, J.R., Reyes-Agüero, J.A., Juárez-Flores, B.I. 2008. Etnobotánicas de *Heliopsis longipes* (asteraceae: heliantheae). *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 83: 81-87.
5. Chang, C. Boodmeier, R. 1998. Low viscosity monoglyceride-based drug delivery systems transforming into a highly viscous cubic phase. *Int. J. Pharm.* 173: 51-60.
6. Garcia-Chávez A., Ramírez C.E. y Molina-Torres J. 2004. El género *Heliopsis* (Heliantheae: Astereae) en México y las alcanidas presentes en sus raíces. *Acta Botánica Mexicana*. 69: 115-131.
7. H. Cheng, B. Xia, L. Zhang, F. Zhou, Y. Zhang, M. Ye, Z. Hu, J. Li, Z. Z. Wang, Matrine improves 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in mice, *Pharmacol. Res.*, 53, 202 (2006).
8. Hernández, I. Márquez, L., Martínez, I. Dieguez, R. Deporte, C., Prieto, S., Molina-Torre, J. Garrido, G. 2009. Anti-inflammatory effects of ethanolic extract and alkaloids-derived from *Heliopsis longipes* roots. *Journal of Ethnopharmacology*. 124: 649-652.
9. Hyde, S. Andersson, S. Ericsson, B. Larsson, K. 1984. A cubic structure consisting of a lipid bilayer forming an infinite periodic minimum surface of the gyroid type in the glycerolmonoleat-water systems. *Z kristallogr.* 168: 213-219.
10. Ikitimur, B. y B. Karadag (2010). Role of myeloperoxidase in cardiology. *Future Cardiology* 6: 693-702.
11. J. Smith, Neutrophils, host defense, and inflammation: a double-edged sword, *J. Leukocite Biol* 56, 72 (1994). Shah, J.C. Sadhale, Y. Chillukuri, D.M. 2001. Cubic phase gels as drug delivery systems. *Adv. Drug Deliv Rev.* 47: 229-50.
12. Little, E. 1948. El chilcuague (*Heliopsis longipes*). Planta insecticida. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 7: 23-27.
13. Luo, Shen, Chen. 2011. Transdermal delivery of paeonol using cubic gel and microemulsion gel. *International Journal of Nanomedicine*. 6: 1603-1610.
14. Kumar, MBBS, MD, FRCPath, V.; Abul K. Abbas, MBBS, Nelson Fausto, MD and Jon Aster, MD (2009). Ch.2 Acute and chronic inflammation. En Saunders (Elsevier). *Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease* (8th edición).
15. Ríos, M.R., Aguilar-Guadarrama, B., Gutiérrez, M.C. 2010. Analgesic activity of affinin, an alkaloid from *Heliopsis longipes* (Compositae). *Journal of Ethnopharmacology*. 110: 364-367.
16. Rzedowski, J. 1992. Diversidad del universo vegetal de México: Perspectiva de un conocimiento sólido. In: *México ante los retos de la biodiversidad*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Usos de la Biodiversidad, México, DF. 251-258 pp.
17. W. Rojas, "Inmunología", Medellín, Ed. Corporación para Investigaciones Biológicas, 1996, pp. 146-148.

EXTRACCIÓN DE ACEITE DE HIGUERILLA MEDIANTE UN PROCESO VERDE PARA LA OBTENCIÓN DE BIODIESEL

José Roberto Contreras Bárbara, Elizabeth González Bautista, Citlaly Anai Serrano Lugo, Jesús Antonio Guzmán Palma, José Alexis García Cerón, Blanca Eva González Monroy y Macaria Hernández Chávez.

Instituto Tecnológico de Atitalaquia.
Departamento de Formación Básica Disciplinaria. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería, Campus Hidalgo, Instituto Politécnico Nacional.

RESUMEN

Hoy en día se están implementando nuevos métodos para la obtención de energías renovables que sustituyan el uso de combustibles fósiles por su inminente agotamiento. Uno de los métodos encontrados es mediante el uso del aceite de higuera que posteriormente se refina con un proceso catalítico para obtener biodiesel. En la industria existen diferentes métodos para la extracción del aceite de higuera, el más utilizado es el método por disolventes (éter de petróleo y hexano) ya que ofrece un buen rendimiento, pero son extremadamente volátiles e inflamables. Por otro lado uno de los Principios de la Química Verde es el uso de disolventes más fáciles de manejar, es por ello que se está trabajando en la investigación del uso del etanol para saber si se puede lograr una eficiencia igual o mayor a la que ofrecen los que actualmente se utilizan y así poder implementar el uso de este disolvente. En la primera fase se recolectó la semilla de Higuera *Ricinus Communis* que crece de manera silvestre en la Región del Valle del Mezquital en el Estado de Hidalgo, se secó al sol por tres días y posteriormente se descascaró, se trituro y la extracción se realizó con el uso de un equipo Soxhlet. La identificación de la composición de los ácidos grasos se realizó por cromatografía de gases equipado con un espectrofotómetro de masas. Los componentes principales del aceite de la higuera después de transesterificar fueron los siguientes: Metil palmitato, ácido nonanoico y metilricinoleato .

INTRODUCCIÓN

Actualmente se están buscando nuevos métodos alternativos para la generación de energías renovables que sustituyan el uso de los combustibles fósiles. Uno de estos métodos es mediante el uso de aceite de higuera y que al someterse a un proceso catalítico este es refinado logrando la obtención de biodiesel. Como primer paso de este proceso se requiere de la extracción del aceite, posteriormente de una transesterificación y finalmente de la hidroxigenación o deoxigenación para obtener una parafina, surgiendo como necesidad debido a que los aceites no se pueden tener almacenados ya que sufren degradación microbiana.

La planta de higuera (*Ricinus Communis* L.) crece de manera silvestre en el Estado de Hidalgo, especialmente en la región del valle del mezquital, esta planta crece a orillas de canales y zanjas de aguas negras (Firmiano, 2008), la semilla de esta planta puede ser utilizada para la extracción de su aceite y una de las ventajas que presenta es que no compromete la seguridad alimentaria ya que es clasificada como no-comestible.

Existen diferentes métodos para la extracción de aceite de higuera, el más usual es la extracción por disolventes (principalmente éter de petróleo y hexano) ya que se obtienen mejores resultados, pero el uso de estos disolventes representa un gran impacto ambiental negativo por su alta volatilidad e inflamabilidad, así también perjudica al ecosistema debido a la descomposición térmica de los componentes lábiles (Peréz, 2012).

No hay suficiente bibliografía sobre la utilización de disolventes amigables con el medio ambiente, es por ello que en este estudio se tiene la inquietud de buscar una nueva alternativa para la obtención del aceite de higuera, así mismo se implementará la utilización de un disolvente que la Química Verde lo cataloga como inocuo al ambiente y al ser humano. De esta manera

fomentaremos el uso de disolventes verdes creando una cultura de diseño de procesos químicos verdes.

TEORÍA

La planta de higuierilla se presenta 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 a 4 semillas de 1.5 a 2.5 cm por cada cápsula, (Ilustración 1). El cultivo de la higuierilla está dentro de los lineamientos de la firma del Protocolo de Kyoto (CORPONOR, 2004) y las políticas implementadas por la Ley 99 de 1993 del Ministerio del Medio Ambiente (Demirbas, 2003).



Ilustración 2 Semilla de higuierilla localizada en el Valle del Mezquital, Hidalgo.

Algunas de las propiedades de la higuierilla son: alta captación del CO_2 (Sánchez, 2012), en la fitorremediación debido a sus propiedades absorbentes de suelos contaminados con metales pesados y en la biorremediación por contaminación de hidrocarburos (Al-Zuhair, 2007), como insecticida, etc. La composición de su semilla en la cual se encuentra aceite al 46.19%, almidón al 20.00%, albúmina al 0.50%, goma al 4.31%, resina bruta y principios amargos al 1.91%, fibra leñosa al 20.00% y agua al 7.09%. La estructura química del aceite de higuierilla se encuentra como un triglicérido simple (triricinoleína), Ilustración 2, sus principales componentes son el ácido ricinoléico (ácido 12-hidroxi-9-octadecaenoico) en un 90%, ácido linoleico 5%, ácido oleico 3%, ácido palmítico 1% y ácido esteárico 1% (González, 2006).

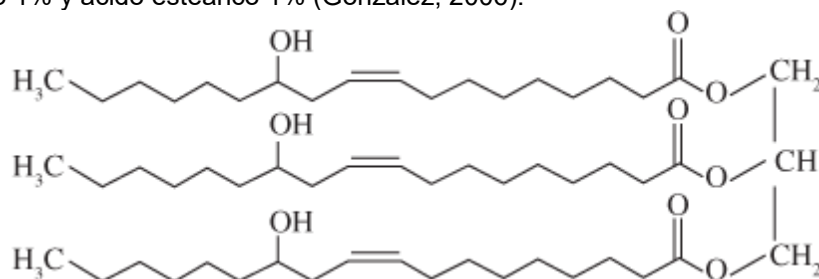


Ilustración 3 Estructura Química del aceite de Higuierilla

El aceite de la higuierilla no se puede extraer simplemente por trituración, por lo que hay que llevar a cabo un proceso de extracción que permita despojar el aceite de la semilla. Uno de estos

procesos es mediante Expeller el cual consiste en un extrusor destinado a la compresión de semillas para la extracción del aceite. La extrusión debe realizarse con una combinación de almendra para que se forme una pasta dura y así se pueda comprimir (Maryam, 2015).

En la industria el método más utilizado para la extracción de aceites es por disolventes; el uso de disolventes orgánicos como el éter de petróleo y el hexano son muy contaminantes (Moreno, 2011), es por ello que emplearemos el etanol como disolvente, tomando en cuenta que el punto de ebullición es de 78 °C a 1 atm de presión y una densidad de 0.7893 g/cm³ a 20 °C.

La extracción con el equipo Soxhlet utiliza un disolvente para extraer triglicéridos de la materia prima. Se da una difusión del disolvente con la semilla, enriqueciéndose el disolvente con el aceite de higuera. Después se recupera el disolvente por evaporación y condensación (destilación) del mismo, dejando el aceite libre del disolvente (Kempen, 2012).

En Estados Unidos a principios de la década de 1990 fue desarrollado el concepto de Química Verde con el propósito de ofrecer un marco para la prevención de la contaminación relacionada con las actividades químicas, diseñando productos y procedimientos químicos que permitan reducir o eliminar la utilización y la síntesis de sustancias peligrosas. El principio 5 de la Química Verde plasma el uso de disolventes seguros y amigables con el medio ambiente, es por ello que impulsa el uso de disolventes como agua, etanol y dióxido de carbono súper crítico.

Como se mencionó anteriormente en esta investigación emplearemos el etanol como disolvente, por lo que las características del etanol hacen que sea considerado un disolvente verde perteneciendo al quinto principio de la química verde al ser menos tóxico (ACS., 1990).

Los disolventes a base de hidrocarburos usados actualmente en la industria son tóxicos y emiten gases de efecto invernadero, mientras que los disolventes halogenados son normalmente carcinogénicos y también son fuentes de radicales libres que destruyen el ozono (Mohammad, 2012).

Estudios realizados por Jibrin Mohammed basados en el modelo teórico Box–Behnken, indican que el uso del hexano ofrece un rendimiento en el aceite de higuera del 59.5 % y con el etanol se obtiene un rendimiento de 51.6% (Damlami, 2014) .

De acuerdo a los métodos existentes de extracción con disolventes, se toma en cuenta las ventajas que se tiene para crear un nuevo método de extracción del aceite de higuera empleando el etanol como disolvente ya que éste se adapta a las necesidades ya mencionadas. Haciendo esta investigación amigable con el medio ambiente y menos costosa, sin perder de vista los principios previstos de la Química Verde.

PARTE EXPERIMENTAL

Como primera fase, se llevó a cabo la recolección de la materia prima de la región, la cual se puso a secar durante una semana hasta que la corteza de la cápsula se desprendiera y así obtener la semilla sin cáscara, Ilustración 3 posteriormente la semilla se trituró con ayuda de un molino pequeño hasta obtener partículas finas que permitan una mayor área de contacto con el etanol.



Ilustración 4 Semilla de Higuera

En la segunda fase, la pasta obtenida en la molienda se colocó en el equipo de Soxhlet para realizar la extracción teniendo en cuenta las temperaturas de ebullición del disolvente.

Después de la extracción se tiene una mezcla de aceite-etanol, por lo cual se inicia una tercera fase que consiste en separar la mezcla mediante un proceso de destilación que nos ayuda a la

recuperación del etanol para que sea reutilizado. Además se realizó una prueba con hexano para contrastar la cantidad de aceite extraída de ésta con la de etanol.

Se realizaron estudios para la caracterización del aceite mediante una muestra que se analizó en un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrofotómetro de masas modelo 7980 para observar los componentes que contiene el aceite mediante un cromatograma. El proceso de Transesterificación se realizó para determinar los componentes del aceite (Ilustración 4).



Ilustración 5 Muestra para la determinación de componentes del aceite de higuera.

La fase de hidroxigenación para la obtención de biodiesel, aún se encuentra en proceso.

RESULTADOS

De acuerdo a las pruebas realizadas con etanol como disolvente se obtuvieron los siguientes resultados. Usando etanol y 60 g de semilla de higuera se obtienen 33 ml de aceite, contrastado con el uso del hexano que produce 45 ml de aceite.

El resultado del análisis de cromatografía de gases-espectrometría de masas, se muestra en el cromatograma (Ilustración 5.). Los componentes principales del aceite, los cuales son: Metil palmitato, ácido nonanoico y metilricinoleato, que fueron identificados por espectrofotometría de masas.



Ilustración 5 Cromatograma de aceite de higuierilla extraído con etanol

CONCLUSIONES

Se obtuvo un buen rendimiento al usar el etanol como disolvente de extracción para la semilla de higuierilla aunque ligeramente es menos efectivo que el hexano. Al utilizar el etanol como disolvente se contribuirá al cuidado del medio ambiente, ya que el sistema no requerirá de algún otro disolvente que contamine, apoyando a las buenas prácticas de la Química Verde.

BIBLIOGRAFÍA

1. M. C. G. Albuquerque, Y. L. Machado, A. E. B. Torres, D. C. S. Azevedo, C. L. Cavalcante Jr., L.R. Firmiano, E.J.S. Parente, "Properties of biodiesel oils formulated using different biomass sources and their blends", *Renewable Energy*, Vol. 34, 3, 2008, pp. 857-859.
2. E. Pérez Faife, M. A. Otero Rambla, A. Alvarez Delgado, "Producción de biodiesel a partir de microorganismos oleaginosos, Una fuente de energía renovable (Parte II: Microalgas)", Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar, Vol. 46, 3, 2012, pp. 26-35.
3. CORPONOR 2004, "Plan de Educación Ambiental para el Departamento Norte de Santander", pp. 2002-2009.
4. A. 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.

5. I. A. Sánchez Medina, K. Huertas Greca, "Obtención y Caracterización de Biodiesel a Partir de Aceite de Semillas de *Ricinus Communis*. (Higuerilla) Modificadas Généticamente y Cultivadas en el Eje Cafetero", 2012, pp. 1-129.
6. S. Al-Zuhair, "Production of Biodiesel: Possibilities and Challenges", *Biofuels, Bioprod. Bioref.*, Vol. 1, 2007, pp. 57 - 66.
7. E. González Amado, J. C. Perea Ortega, A. F. López, "Caracterización Termo-analítica de Semillas de *Ricinus Communis* Variedades Mamona Blanca, Mamona Negra y Silvestre: Análisis de las Propiedades Reológicas del Biodiesel,": *Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*", Vol. 4, Núm. 1, 2006, pp. 15-20.
8. I. Maryam, K. Hayat Bahtti, Z. Anwar, U. Farooq Dogar, M. Irshad, "Production, Optimization and Quality Assessment of Biodiesel from *Ricinus Communis* L. Oil, Department of Botany, University of Gujrat", Pakistan, 2015, pp. 1-5.
9. G. Hincapié, A. Moreno, D. López, "Transesterification of Crude Castor Oil by Heterogeneous Catalysts: Preliminary Study", *Dyna* Vol. 78, 169, 2011, pp. 1-10
10. D. Van, D. Van Kempen, "Composition for Hair and Body Applications, United States Patent Application Publication", 2012, pp. 1-5.
11. American Chemistry Society, ACS Green Chemistry Institute, "Solvents Green", 1990, pp. 67-72.
12. A. Mohammad, A. Inamuddin, Siddiq, M. Naushad, "Green Solvents I: Properties and Applications in Chemistry", Vol. 1, 2012, pp. 331-341.
13. J. Mohammed Danlami, A. Arsad, M. A. Ahmad Zaini, "Characterization and Process Optimization of Castor Oil (*Ricinus Communis* L.) Extracter by the Soxhlet Method Using Polar and Non-Polar Solvents", *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, Vol. 47, 2014, pp. 1-6.

SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE Al_2O_3 (ALUMINA)

Victor Rafael Marquez Rivas, Virginia Francisca Marañón Ruiz, Cesar Isaac Cedillo Ortiz, Joel de Jesus Barba Franco¹, Jesús Castañeda Contreras, Ruben Arturo Rodriguez Rojas y Roger Chiu Zarate.

Departamento de Ciencias de la Tierra y de la Vida.

Departamento de Ciencias Exactas y Tecnología Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara. Av. Enrique Díaz de León # 1144, Col. Paseos de la Montaña, Lagos de Moreno, Jalisco, C.P.47460, e-mail: vmaranon@culagos.udg.mx.

RESUMEN

En la industria microelectrónica actualmente se requiere la fabricación de materiales con una constante dieléctrica alta para la fabricación de celdas.¹ Un material que presenta esta característica son las nanopartículas de Al_2O_3 . La fabricación de este nanomaterial se ha realizado por medio de numerosas técnicas, sin embargo, la mayoría de ellas resultan ser sumamente laboriosas y costosas. En este trabajo por medio de la técnica Sol-Gel y calcinación se logró la obtención de nanopartículas de alúmina a una temperatura de 1100 °C por 3 h.² Lo novedoso y económico de este trabajo es que se empleó papel de aluminio de grado alimenticio (4 marcas comerciales diferentes) y cloruro de aluminio como materias primas precursoras. El rendimiento por ésta metodología fue de 70-75 %. Las muestras fueron caracterizadas através de espectroscopía de: reflectancia difusa, FT-IR y difracción de rayos X, y para el análisis del tamaño de las partículas se empleó AFM. Las muestras obtenidas absorbieron en reflectancia difusa a 333 nm y presentaron dos hombros en 375 y 400 (nm). En FT-IR absorbieron en 2974 y a 2902 cm^{-1} las cuales se asignan a las bandas de vibración de agua adsorbidas, en 1415 se asigna a la vibración $(\text{AlO}(\text{OH})\cdot n\text{H}_2\text{O})$ y 2052 y 2233 se asignan a vibración y estiramiento de (AlO). El patrón de difracción de RX después de calcinadas las muestras mostraron el patrón de **boehmita** (JCPDS card no. 21-1307). Por último, el análisis morfológico por AFM mostró un tamaño de partícula de 119-125 nm. Finalmente, el uso de papel aluminio comercial sirvió para ser usado como parte de una técnica alternativa para generar nanopartículas de Alúmina.

INTRODUCCION

El estudio de material en escala nano ha permitido que algunas áreas de la investigación como la nanociencia y la nanotecnología presenten un gran desarrollo científico y tecnológico en los últimos años, obteniendo así una gran contribución en cuanto a la comprensión y descubrimiento de nuevas propiedades susceptibles a escalas diminutas, considerando el control, comportamiento y estructura fundamental de la materia a nivel atómico y molecular (1). En la actualidad, las nanopartículas han destacado de entre otros materiales debido a la gran variedad de aplicaciones que éstas presentan, teniendo participación en diversas disciplinas, tanto en el campo ambiental contribuyendo de manera beneficiosa, llegando a influir a su vez en el campo médico y tecnológico donde se le atribuye a la elaboración de materiales y equipos médicos respectivamente (3). En las últimas décadas el desarrollo de alúminas ha surgido como objeto de numerosas investigaciones por las propiedades intrínsecas que presenta el óxido de aluminio, como elevado punto de fusión, baja conductividad térmica, inercia química y resistencia a la corrosión, a las que se unen una elevada superficie específica y permeabilidad, que hacen que encuentren aplicación en multitud de sectores industriales y técnicos (1). En aquellos procesos en los que intervengan temperaturas altas, la estabilidad cristalográfica y textural de las alúminas adquiere una importancia significativa; sin embargo, la mayoría de los métodos de preparación conducen hacia la generación de óxidos metaestables, que no encuentran aplicabilidad en procesos de elevada temperatura debido a su transformación hacia la fase *alfa* (1). No obstante, algunas metodologías viables para la elaboración de este material suelen ser demasiado costosos e incluso en algunas de las ocasiones pueden resultar dañinos al medio ambiente (3). Considerando esto se pretende encontrar un

método alternativo viable y económico. En la presente investigación la idea principal u objetivo es formular un método fácil y novedoso para la preparación y obtención de nanopartículas de alúmina por medio de papel de aluminio comercial como materia prima, mediante la metodología sol-gel, un método de bajo costo pero de buenos resultados en cuanto a la obtención de nanopartículas se refiere. Además se contribuirán los resultados utilizando algunas técnicas de caracterización, como el uso de microscopia de fuerza atómica, microscopia electrónica de barrido, espectroscopia de reflectancia difusa UV-VIS, difracción de rayos X y espectroscopia de infrarrojo (Miramontes y Volke, 2013).

TEORIA

El estudio de la ciencia de los materiales a través de la historia ha generado una gran cantidad de conocimientos y productos de investigación generando nuevos materiales que ofrecen una serie de características esenciales como dureza y resistencia a la fricción o la torsión, materiales dúctiles, cerámicas conductoras e incluso polímeros conductores. Una de las más importantes investigaciones en los últimos años es precisamente el estudio de las nanopartículas, las cuales han encontrado un campo de aplicación muy grande en varias industrias e incluso en la vida cotidiana; ya que están presentes en una gran variedad de dispositivos. Es bien conocido por ejemplo el caso de las máquinas y herramientas, sobre todo aquellas con sistemas automatizados, que cuentan con herramientas y cortadores fabricados con acero de alta velocidad recubierto con una fina película de carburo de tungsteno, titanio o diamante artificial, la cual aumenta considerablemente su dureza y su resistencia a la abrasión. La industria microelectrónica no es la excepción, ya que una gran variedad de materiales han encontrado ahí un campo de aplicación ya sea como materiales conductores, materiales superconductores y materiales aislantes. Dentro del estudio de materiales con alta constante dieléctrica se puede señalar al óxido de hafnio, el óxido de circonio, el óxido de itrio, el óxido de aluminio, entre otros (2). Estos materiales cuentan algunas de las veces con una serie de características como: alto campo de rompimiento dieléctrico, baja densidad de estados de interfaz cuando se depositan sobre silicio, capacitancia y alta constante dieléctrica. Estas propiedades los convierten en buenos candidatos para la fabricación de dispositivos electrónicos; como los transistores e incluso circuitos integrados en forma de película delgada. (2). El óxido de aluminio puede presentar diversas estructuras cristalinas, grado de hidratación e impurezas, siendo las de mayor uso cerámico la α -alúmina, la γ -alúmina y el hidróxido de aluminio γ -Al(OH)₃. La forma natural de alúmina anhidra se denomina corindón, de estructura α -Al₂O₃. (1). En la vida cotidiana podemos encontrar al óxido de aluminio en las piedras preciosas como el rubí y el zafiro, estas están compuestas por corindón coloreado por pequeñas impurezas. El óxido de aluminio también presenta una gran dureza, sólo le superan en dureza el diamante y algunas sustancias sintéticas, como el carborundo o carburo de silicio. Tanto el corindón natural impuro (esmeril), como el corindón artificial puro (alundo) se utilizan como abrasivos. A temperatura ordinaria, el óxido de aluminio es insoluble a muchos reactivos químicos comunes. Debido a su alto punto de fusión, ligeramente superior a los 2000 °C, se utiliza como material refractario, por ejemplo, para revestir hornos especiales. El óxido de aluminio hidratado es fácilmente soluble en 23 ácidos o álcalis y se usa como materia prima en los procesos de fabricación de todos los compuestos de aluminio.

El proceso sol-gel permite la fabricación de materiales amorfos y policristalinos con características especiales en su composición y propiedades. Su utilidad radica en que necesita menor temperatura en comparación con los métodos tradicionales de fabricación de vidrios por fusión. El sol-gel es una ruta química que inicia con la síntesis de una suspensión coloidal de partículas sólidas o cúmulos en un líquido (sol) y la hidrólisis y condensación de éste sol para formar un material sólido lleno de solvente (gel). El disolvente se le extrae al gel simplemente dejándolo reposar a temperatura ambiente durante un periodo de tiempo llamado envejecimiento, en el cual el gel se encogerá expulsando el solvente y agua residual. Al término del tiempo de envejecimiento, por lo general aún se tienen solventes y agua en el material, además de que el tamaño del poro es considerable. Es por este motivo que el material se somete a un tratamiento térmico lo cual genera la formación del monolito(9).

PARTE EXPERIMENTAL

La metodología que se pretende emplear para la elaboración de nanopartículas de alúmina es la metodología Sol-Gel, la cual consiste en la evolución de redes de polímeros híbridos, mismo que nosotros requerimos. La metodología así como el equipo y reactivo requerido depende del tipo de nanopartícula que se pretende sintetizar (2), en el caso de las nanopartículas de alúmina es lo que se muestra a continuación.

3.1. Reactivos y equipo de laboratorio requeridos

En la siguiente tabla 1 se muestran los reactivos y equipo necesario para llevar a cabo la obtención de nanopartículas de alúmina.

Tabla 1. Reactivos y equipo necesario.

Reactivos Requeridos	Equipo requeridos
Cloruro de aluminio hexahidratado [Al ₂ Cl ₃ * 6H ₂ O]. (Sigma Aldrich, 99%)	Mantilla de calentamiento (SEV)
Ácido Clorhídrico HCl (Karol 36.5%)	Parrilla de calentamiento (Fisher Scientific)
Agua destilada	Horno (Binder)
4 Marcas distintas de papel de aluminio grado alimenticio	Mufla (Novatech)
Papel aluminio de diversas marcas (grado alimenticio)	Recirculador (SEV)

3.2. Síntesis de nanopartículas de alúmina

En un matraz bola se adicionará cloruro de aluminio hexahidratado (15.8 g), agua destilada (18 mL) y ácido clorhídrico (10 mL) en esa misma secuencia. Posteriormente, con ayuda de una mantilla de agitación y calentamiento, se pondrá la muestra en agitación constante a 700 revoluciones por min y a una temperatura constante, a punto de ebullición de la sustancia. Una vez montada la reacción se añadirá el papel de aluminio cortado en pequeños cuadros de 1 cm². En seguida después de haber finalizado el paso anterior, la reacción será puesta en recirculación. Una vez transcurridas de 4 - 7 horas, la reacción se retirará de sistema de reflujo y la solución, de aspecto gel-transparente, pasara a un horno de calentamiento a una temperatura de entre 80°C a 100°C durante un periodo de tiempo de 7 a 9 días aproximadamente, para su deshidratación. La masa deshidratada obtenida se triturará con ayuda de un mortero para obteniendo un polvo fino, el cual será colocado en un crisol de porcelana y se calcinará la muestra a 1100 °C en una mufla durante 3 horas. La muestra calcinada se triturará nuevamente y se dispersará en 100 mL de etanol grado reactivo donde posteriormente se calentará, agitará y se dejará en reflujo por 24 horas. Finalmente, cumplidas las 24 horas, las nanopartículas dispersas en etanol se llevarán a un horno a 85°C para evaporar el etanol. Como resultado esperado se obtendrán las nanopartículas de alúmina (Al₂O₃). Este procedimiento se utilizó para cada uno de las distintas marcas de papel aluminio denominados de la siguiente manera en la tabla 2.

Tabla 2. Papeles de Aluminio (grado alimenticio) seleccionados para el proyecto.

Numero de muestra del papel
Muestra 1
Muestra 2
Muestra 3
Muestra 4

RESULTADOS

El rendimiento por ésta metodología fue de 70-75 %. Conforme finalizo la parte experimental para cada uno de los 4 papeles de aluminio se procedió a realizar la parte de caracterización donde debido a al tipo de papel de aluminio que se utilizó se obtuvieron resultados muy similares siendo la muestra 2 como la más destacada y significativa en cuento a resultados al presentar las siguientes características en el espectro de XRD que se muestra a continuación en la figura 1.

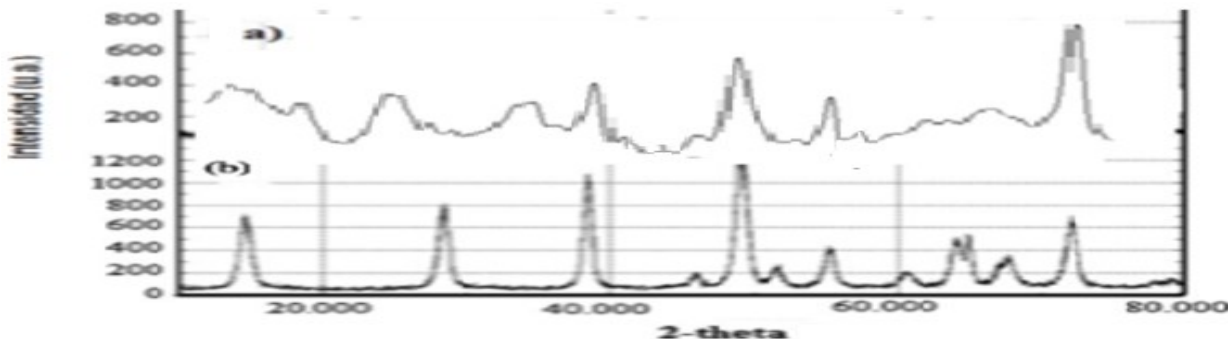


Figura 1.- Difractograma de alúmina muestra 2 (a) obtenida por nosotros y patrones de alúmina boehmita (tarjeta JCPDS n ° 35-0121).

El patrón de difracción de RX después de calcinadas las muestras mostraron el patrón de **boehmita** (JCPDS card no. 21-1307). Donde se puede apreciar algunos picos similares.

Para detectar la funcionalización y a su vez la identificación de la fase, se realizó el análisis FT-IR donde se obtuvo el siguiente resultado ilustrado en la figura 2.

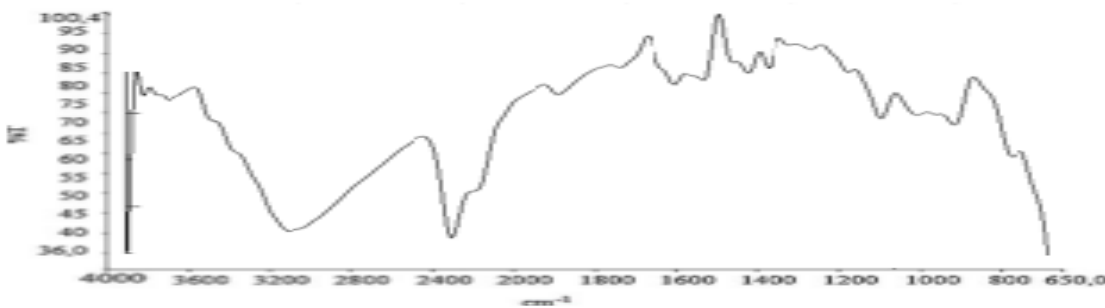


Figura 2.- FT-IR de alúmina

Las muestras fueron caracterizadas a través de espectroscopia de, FT-IR donde se presentó absorción en 2974 y a 2902 cm^{-1} las cuales se asignan a las bandas de vibración de agua adsorbidas, en 1415 se asigna a la vibración $(\text{AlO}(\text{OH})_n\text{H}_2\text{O})$ y 2052 y 2233 se asignan a vibración y estiramiento de (AlO) .

El nivel de absorbancia del producto obtenido se muestra a continuación en la figura 3 donde por medio de espectroscopia DR-UV-Vis se obtuvieron los siguientes datos.

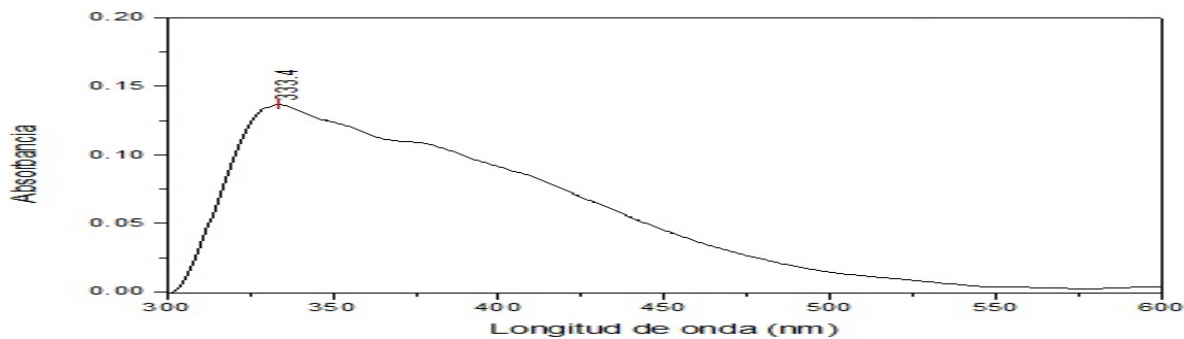


Figura 3, espectro de absorción de alúmina por medio de DR-UV-Vis.

Las muestras obtenidas lograron una absorbancia de 333.4 nm en reflectancia difusa además y se presentó la posible formación de dos hombros en 375 y 400 (nm). Mostrando un gran alcance de absorbancia que va desde los 300 a los 550 nanómetros.

El análisis morfológico por AFM mostró un tamaño de partícula considerable dentro de la escala nanométrica. La visualización de tamaño de partícula fué optima logrando un tamaño de partícula satisfactorio de 70 nm aproximadamente, tal y como se muestra en la figura 4.

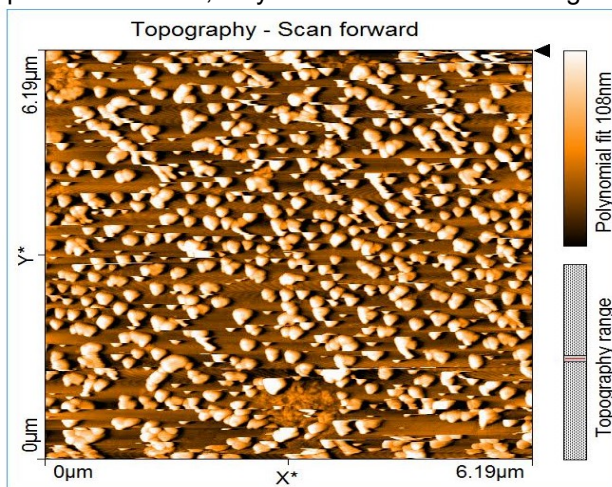


Figura 4.- Visualización de partículas de alúmina mediante AFM en el rango de 70 nm.

CONCLUSIONES

La síntesis de nanopartículas de alúmina por medio de papel aluminio comercial grado alimenticio, mostro ser una fuente viable, de bajo costo y de grandes resultados como precursor, siendo la muestra numero 2 la que mejor resultados obtuvo los cuales fueron mencionados anteriormente en los resultados comparados con la literatura reportada, El patrón de difracción de RX muestra algunas señales que no son del todo acordes a la bibliografía, lo cual se tiene pensado que sean algunas trazas de algunos metales presentes en el papel aluminio siendo un punto de investigación actualmente, el difractograma de FTIR muestra señalizaciones características del material obtenido el DR-UV-Vis mostro un óptimo rango d absorbancia y la medida de partícula se encuentra dentro del rango optimo en la escala nanométrica.

BIBLIOGRAFIA

1. Benitez M., Pérez L., Pana P., Cosp J. P. 2013. Alúminas Porosas: el método de bioréplica para la síntesis de alúminas estables de alta superficie específica, 52, 251-267.3.

2. Shojaie-Bahaabad M., Taheri-Nassaj N. 2008. Economical synthesis of nano alumina power using an aqueous sol-gel method, 62, 3364-3366
3. 4.- Zaman, A., Cem B., Kuskonmaz N., Kaya F., Kaya C. 2010. 3-D micro-ceramic components from hydrothermally processed carbon, *Ceramics International*, 36, 1703-1710.

PAPEL DEL GEN *MUTSB* EN CONTRARRESTAR EL DAÑO CAUSADO POR EL ESTRÉS OXIDATIVO EN *BACILLUS SUBTILIS*

Mariana Cecilia Magdalena Meza Vázquez, Norma Ramírez Ramírez, Armando Obregón Herrera, Mario Pedraza Reyes

Universidad de Guanajuato

RESUMEN

El estrés oxidativo induce la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) capaces de dañar al DNA generando la altamente mutagenica lesión 8-oxo-dG. En el modelo de estudio *Bacillus subtilis*, los efectos mutagénicos de esta modificación son contrarrestados por el sistema de la guanina oxidada (GO) que utiliza la reparación por escisión de bases mediante las ADN glicosilasas *mutM* y *mutY*. *mutSB*, una proteína paróloga a *mutS* del sistema MMR, ha sido implicada en la reparación de lesiones de ADN causadas por estrés oxidativo. Para conocer la relación de *mutSB* con *mutM* y *mutY* en proteger a *B. subtilis* de los efectos nocivos del estrés oxidativo, utilizamos un enfoque molecular y fisiológico consistente en: i) generar y caracterizar molecularmente las mutantes nulas *mutSB mutY* y *mutSB mutM*, y, ii) analizar en referencia a la cepa parental silvestre (WT) y las mutante sencillas, su susceptibilidad al agente oxidante peróxido de hidrógeno (H₂O₂), así como en la frecuencia de mutagénesis espontanea. Los resultados mostraron un incremento en la susceptibilidad al H₂O₂ y un efecto aditivo en la mutagénesis de las dobles mutantes respecto a la cepa WT y las mutantes *mutSB*, *mutY* o *mutM*. En conclusión, estos resultados sugieren que *mutSB* y *mutY/mutM* contrarrestan los efectos genotóxicos y citotóxicos del estrés oxidativo en *B. subtilis* mediante vías independientes.

INTRODUCCIÓN

La información genética de los organismos se encuentra almacenada en el DNA, el cual es indispensable para perpetuar la vida. Los organismos están expuestos a una amplia variedad de agentes genotóxicos (especies reactivas de oxígeno (ROS), la luz UV, radiaciones ionizantes y diversos compuestos químicos) capaces de alterar la estructura del DNA y sus precursores provocando mutaciones [1]. Aunque algunas mutaciones son letales, otras son favorables para la célula, ya que pueden brindarles ventajas para sobrevivir ante una presión selectiva existente, lo cual permitirá a la célula adaptarse [2,3]. Por lo anterior, es importante dilucidar los mecanismos involucrados en la generación de mutaciones puesto que juegan un papel esencial en la generación de diversidad genética, patogénesis y evolución. Las bacterias representan un extraordinario modelo de estudio para entender los mecanismos moleculares que rigen este proceso [2,3]. En nuestro grupo de trabajo hemos utilizado a *B. subtilis* para entender el papel que juegan distintos sistemas de reparación en modular la mutagénesis en células en ayuno, carentes de división [2]. Notablemente, se ha demostrado que la tasa de mutación en este organismo está influenciada por la respuesta al estrés fisiológico [2,3].

El estrés oxidativo induce la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) capaces de dañar al DNA generando la altamente mutagenica lesión 8-OxoG. En el modelo de estudio *Bacillus subtilis*, los efectos mutagénicos de esta modificación son contrarrestados por el sistema de la guanina oxidada (GO) que utiliza la reparación por escisión de bases mediante las ADN glicosilasas *mutM* y *mutY*.

El sistema MMR (*mutSL*) de *B. subtilis* reconoce y corrige los malos apareamientos causados por la DNA polimerasa, contribuyendo a la fidelidad de la replicación en células en crecimiento. Estudios recientes han sugerido que la mutación adaptativa es favorecida por la saturación de este sistema, cuya contribución principal está dada por la proteína *mutS* [4].

En el genoma de *B. subtilis* existe el gen *mutSB* (*yhsD*), un parólogo de *mutS* cuyo producto pertenece a la familia de proteínas *mutS2* [5], la función de *mutSB* no está relacionada con la ruta de reparación MMR. *mutSB* se expresa en todo el ciclo de vida de *B. subtilis* pero sus niveles son

máximos en la fase estacionaria [6]. De acuerdo con este antecedente, un análisis proteómico reveló un incremento en la producción de MutSB durante la fase estacionaria, en una mutante deficiente en el sistema GO. Se encontró que durante el crecimiento, la carencia de *mutSB* no genera un fenotipo mutador en *B. subtilis* y que su interrupción tampoco afectó la mutagénesis de una cepa carente del sistema MMR en este microorganismo. Sin embargo, en ausencia de un sistema MMR funcional *mutSB* juega un papel relevante en prevenir las mutaciones que se generan en células de *B. subtilis* carentes de división celular [7].

TEORÍA

Los organismos que utilizan al oxígeno como aceptor final de electrones durante la respiración producen especies químicas parcialmente reducidas incluyendo a los radicales superóxido e hidroxilo, así como peróxido de hidrógeno. El radical hidroxilo es altamente reactivo con distintas biomoléculas incluyendo el ADN, generando principalmente la lesión 8-OxoG. Esta base modificada puede aparearse establemente con adenina generado, durante la replicación, transiciones G:C por A:T. Por su carácter citotóxico y genotóxico estos insultos deben de ser eliminados mediante sistemas de reparación que utilizan distintas estrategias bioquímicas [8, 9].

Los efectos adversos de la 8-OxoG son contrarrestados en *B. subtilis* y otras bacterias por el sistema de la Guanina Oxidada ó sistema GO, conformado por las proteínas MutT (YtkD), MutM y MutY [12]. La primera, YtkD, hidroliza al precursor 8-Oxo-dGTP evitando su incorporación al DNA, de manera independiente, MutM elimina la base oxidada y MutY la adenina del mal apareamiento 8-OxoG:A, dejando en cada caso un sitio abásico, el cual es procesado por componentes del sistema de reparación por escisión de bases (BER) [13].

Reportes recientes de nuestro grupo de trabajo mostraron que los malos apareamientos 8-OxoG:A pueden ser sustratos del sistema de reparación de bases erróneamente aparadas (MMR) conformado por las proteínas MutS y MutL [14]. La proteína MutSB posee homología con la proteínas MutS de *B. subtilis* pero sus funciones no parecen ser redundantes, por el contrario en *E. coli*, la proteína MutSB participa en contrarrestar los efectos genotóxicos del estrés oxidativo. En *B. subtilis* la pérdida de MutSB no genera un fenotipo mutador, esto sugiere que otras vías de reparación procesan sus sustratos. En el presente estudio se investiga una posible interrelación entre MutSB y las proteínas MutM y MutY del sistema GO en contrarrestar los efectos

PARTE EXPERIMENTAL

Cepas bacterianas y condiciones de crecimiento

Las cepas bacterianas empleadas fueron *B. subtilis* 168 (WT), PERM571 (\square *mutM*; 11), PERM704 (\square *mutY*; 12), PERM1516 (\square *mutSB mutM*; 15) y PERM1459 (\square *mutSB mutY*; 6). Se utilizó el plásmido pPERM 1217 que contiene una construcción para interrumpir el gen *mutSB* de *B. subtilis* (7) y los oligonucleótidos, 496-Dir (5'-CGGAATTCGACATCGAGCTTGCCCGC-3') y 183-Rev (5'-GCAGCAACGAGACGTCAC-3). El crecimiento de las cepas se realizó en Medio Luria Bertani. Para propagar y mantener en estado vegetativo a *B. subtilis* se utilizó medio A3 (Antibiotic médium 3, Difco). En la preparación de las células competentes de *B. subtilis* se utilizó medio GMI y Medio GMII [12]. Cuando se requirió se adicionó a los cultivos los siguientes antibióticos, Ampicilina (Amp) 100 µg/mL, Rifampicina (Rf) 10 µg/mL, Tetraciclina (Tc) 3 µg/mL, Eritromicina (Eri) 5 µg/mL y Espetidinomicina (Sp) 5 µg/mL .

Preparación, y transformación de células competentes y construcción de la cepa mutante Δ mutM mutSB y Δ mutYmutSB.

La preparación y transformación de células competentes de *B. subtilis* se realizó de acuerdo a un protocolo previamente descrito [10]. Para la construcción de las cepas mutantes se utilizó el plásmido pPERM1217 [7] para transformar células competentes de *B. subtilis* PERM571[11] y PERM704 [9](**Tabla 1**). Las transformantes se seleccionaron por resistencia a Eri y se caracterizaron molecularmente mediante PCR amplificando un fragmento de 1060 pb de la región

mutSB-lacZ, utilizando el par de oligonucleótidos descritos en la (Tabla 2). Las cepas obtenidas se denominaron *B. subtilis* PERM1516 Y PERM 1459 [6].

Determinación de la frecuencia de mutación mediante el fenotipo de resistencia a rifampicina.

Las cepas fueron cultivadas durante 12 horas en 10 mL de medio A3 suplementada con los antibióticos correspondientes. El cultivo se centrifugó a 4800 rpm, durante 10 min., la pastilla celular se lavó una vez con SS1X y se resuspendió en 1 mL de estas mismas sales. A continuación se plaquearon alícuotas de 100 μ L en seis placas de LB suplementadas con Rifampicina (10 μ g/mL). Las placas se incubaron a 37°C. y las colonias resistentes a Rifampicina se contaron después de 24 horas. La cantidad de células en el cultivo bacteriano se determinó mediante dilución seriada y cuenta viable en placas de LB.

Determinación de la sensibilidad al peróxido de hidrógeno.

Las cepas fueron cultivadas en medio LB hasta que alcanzarán una densidad óptica de 0.6 a 37°C, se colectaron las células por centrifugación y posteriormente se hicieron 2 lavados con PBS. Del cultivo celular se trasladaron a diferentes tubos de dilución donde se les indujeron con las diferentes concentraciones de H₂O₂ y se incubaron con agitación 30 min. Después de la incubación se hicieron diluciones seriadas hasta la dilución 10⁻³, de las diferentes concentraciones de H₂O₂ se sembraron en placas LB las diluciones 10⁻² y 10⁻³ estas placas se incubaron durante 12 horas a 37°C, y posteriormente se contaron las colonias donde se determinó la dosis letal 50 y 90.

RESULTADOS

Obtención y caracterización molecular de cepas de *B. subtilis* con mutaciones nulas en los genes *mutM*, *mutY* y/o *mutSB*

Como requisito para investigar si los eventos de reparación realizados por MutSB traslapan con la función de MutM y MutY se construyeron mutante dobles *mutSB mutY* y *mutSB mutM*. Para construir dichas mutantes, se utilizó el plásmido pPERM1217 para transformar cepas de *B. subtilis* deficientes en *mutM* o *mutY*, respectivamente, e interrumpir al gen *mutSB*. La integración correcta de pPERM1217 al locus *mutSB* de las cepas *B. subtilis* PERM571 y PERM704 se verificó mediante la amplificación por PCR de un fragmento *mutSB-lacZ* utilizando como templado DNA genómico de las cepas transformantes y el set de oligonucleótidos descritos en la parte experimental. El producto de amplificación de 1.06 Kpb esperado en los fondos genéticos de interés (Fig.1) corrobora la obtención de las mutantes deseadas, las cuales se denominaron *B. subtilis* PERM1516 (\square *mutM MutSB*) y PERM1459 (\square *mutY MutSB*).

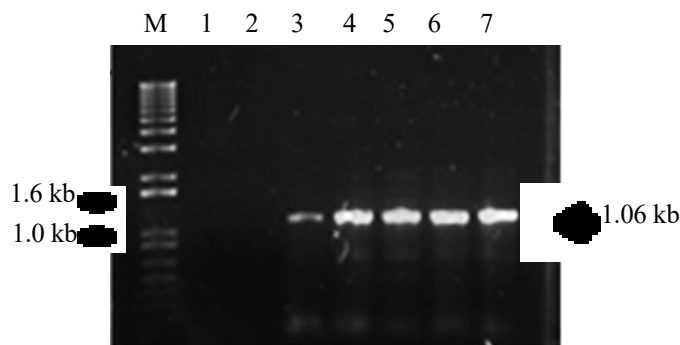


Figura 1. Análisis electroforético para corroborar la integración de la construcción pPERM1217 en el locus *mutSB* del cromosoma de *B. subtilis* PERM571 (Δ *mutM*) y PERM704 (Δ *mutY*). Los productos de amplificación se separaron en un gel de agarosa de 1% (p/v) teñido con bromuro de etidio al 0.1% (p/v). M. marcadores de tamaño de DNA de 1 kb. Carril 3-5, banda de PCR que corrobora la interrupción de *mutSB* en la cepa *B. subtilis* Δ *mutM*. Carriles 6-7, banda de PCR que corrobora la interrupción de *mutSB* en la cepa *B. subtilis* Δ *mutY*.

Frecuencia de mutación espontánea de cepas de *B. subtilis* con mutaciones sencillas o dobles en los genes *mutSB*, *mutM* y *mutY*

Para investigar la relación genética de los genes de interés se determinaron las frecuencias de mutación de resistencia rifampicina (*rif^r*) de las mutantes sencillas y dobles. Los resultados preliminares **mostraron que** la falta de *mutSB* no aumentó significativo la frecuencia de mutación espontánea comparada con la cepa parental. Por otra parte, las mutantes *mutM* (PERM571) y *mutY*(PERM704) incrementaron respectivamente 8 y 90 veces su frecuencia de mutación espontánea con respecto a la cepa parental. Notablemente, la frecuencia de mutación de las cepas *mutM mutSB* (PERM1516) y *mutY mutSB* (PERM1459) fue superior a la suma de los valores de las mutantes sencillas. En conjunto, estos resultados sugieren que *mutSB* opera mediante rutas independientes de *mutM* y *mutY*, sobre lesiones espontáneas generadas durante el crecimiento de *B. subtilis*.

Efecto del H₂O₂ sobre la sobrevivencia de cepas de *B. subtilis* con mutaciones sencillas o dobles en los genes *mutSB*, *mutM* y *mutY*

Resultados preliminares mostraron que la mutante *mutSB* fue más susceptible que la cepa parental silvestre y la mutante *mutY* al tratamiento con peróxido de hidrógeno; aunque dicho efecto fue similar al mostrado por la mutante *mutM*. Además, la inactivación genética de *MutM* pero no de *MutY* en el fondo Δ *mutSB* aumentó la susceptibilidad al tratamiento con el agente oxidante. En conjunto estos resultados sugieren que *mutSB* y *mutM/mutY* reparan lesiones genéticas ocasionadas por el peróxido de hidrógeno mediante mecanismos independientes.

CONCLUSIONES

Se generaron y caracterizaron molecularmente cepas de *Bacillus subtilis* con fondos genéticos Δ *mutM mutSB* y Δ *mutY mutSB*

MutSB y *MutM/MutY* podrían participar en reparar lesiones genéticas espontáneas e inducidas por peróxido de hidrógeno mediante mecanismos independientes.

FINANCIAMIENTO. Trabajo apoyado por CONACYT (Subsidios: 205744 and 221231) y UGTO (Subsidios: 936-2016 and 1090-2016). MCMMV fue apoyada con una beca de CONACyT.

BIBLIOGRAFÍA

1. Pedraza-Reyes, M., Ramírez-Ramírez, N., Vidales-Rodríguez, L.E., Robleto, E.A. (2012) Mechanisms of bacterial spores survival. *In* Bacterial Spores: Current Research and Applications. pp. 73-84. Abel- Santos, E. (ed). Norfolk UK: Caiser Academic Press, pp. 73-84.
2. Yasbin, RE., Pedraza-Reyes, M. (2004). Stationary phase-induced mutagenesis alive and well within the neo-Darwinian theory. pp. 181-191. *In* Microbial Evolution: Gene establishment, Survival, and Exchange. Ed. R. Miller. ASM Press, Washington, D.C.
3. Robleto EA, Yasbin R, Ross C, Pedraza-Reyes M. (2007). Stationary Phase Mutagenesis in *B. subtilis*: A Paradigm to Study Genetic Diversity Programs in Cells Under Stress. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*. 42: 327-339.
4. Pedraza-Reyes, M. & R.E. Yasbin, (2004) Contribution of the mismatch DNA repair system to the generation of stationary-phase-induced mutants of *Bacillus subtilis*. *J Bacteriol*.186:6485-6491.
5. Rosolillo, P., Albertini, A.M. (2001).Functional analysis of the *Bacillus subtilis yhsD* gene, a *mutS* paralogue. *Mol Gen Genet*. 264: 809-818.
6. Aniceto Hernandez, Y.J., Pedraza Reyes Mario (2015), Reparación de DNA con tendencia al error: Efecto en supervivencia y evolución microbiana, Jóvenes en la Ciencia, pp. 582-583.
7. Rodríguez, L.A. (2014) Papel del gen *mutSB* en el proceso de mutación adaptativa de *Bacillus subtilis*. Tesis de licenciatura. Universidad de Guanajuato.

- [8] Gicquel Brigitte, The identification of genetic markers of major family strains opened the way to the study of DNA repair in *M. tuberculosis*, publicado en : Instituto Paasteur, Disponible en : <https://research.pasteur.fr/fr/project/dna-repair-and-evolution/>
- [9]. Salazar Montes Adriana María, Sandoval Rodríguez Ana Soledad, Armendáriz Borunda Juan Socorro, Sistema 8- oxo- guanina, pág. 85, Biología Molecular Fundamentos y aplicaciones en las ciencias de la Salud.
- [10]. Boylan, R.J., Mendelson, N.H., Brooks, D., & Young, F.E. (1972) Regulation of the bacterial cell wall: analysis of a mutant of *Bacillus subtilis* defective in biosynthesis of teichoic acid. *J Bacteriol* 110: 281-290.
- [11]. Gómez-Marroquin M., Vidales L.E., Debora B.N., Santos-Escobar, F., Obregón-Herrera, A., Robleto, E.A., Pedraza-Reyes, M. (2015) Role of *Bacillus subtilis* DNA Glycosylase *mutM* in Counteracting Oxidatively Induced DNA Damage and in Stationary-Phase-Associated Mutagenesis. *J Bacteriol.* 11:1963-71.
- [12]. Debora N. Bernardo, E. Vidales Luz, Ramírez Rosario, Ramírez Mariana, Robleto E. A., E. Yasbin Ronald, Pedraza Reyes Mario (2010) Mismatch Repair Modulation of *mutY* activity drives *Bacillus subtilis* Stationary-Phase Mutagenesis *J bacteriol.* 193:234-246.
- [13]. Ambriz Aviña Verónica, E. Ronald Yasbin, Robleto E. A., Pedraza Reyes Mario (2016) Role of Base Excision Repair (BER) in transcription-associated mutagenesis of nutritionally stressed nongrowing *Bacillus subtilis* cell subpopulations *Springer Link*, 73: 721.
- [14]. Pedraza Reyes Mario, Ronald E. Yasbin Contribution of the mismatch DNA repair system to the generation of the stationary phase induced mutants of *Bacillus subtilis* (2004) 19: 6485-6491.
- [15]. Meza Vázquez Mariana Cecilia Magdalena, Ramírez Norma, Pedraza Reyes Mario, Construcción y caracterización de una mutante nula de *Bacillus subtilis* deficiente en *mutSB* y componentes del sistema GO, Jóvenes en la Ciencia, vol.2 num. 1

TASA DE CRECIMIENTO DE HERBÁCEAS CON POTENCIAL DE RESTAURACIÓN EN SUELOS DEGRADADOS DEL BOSQUE LA PRIMAVERA

Rosa de Lourdes Romo Campos, Milca Mayo Mendoza y Pablo Medina Fernández.

Departamento de Ciencias Ambientales, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara. rirc.cucba@gmail.com
Egresados de la Licenciatura de Biología, Universidad de Guadalajara.

RESUMEN

El Área de Protección de Flora y Fauna Bosque La Primavera (APFFBP) provee de servicios ambientales a la zona conurbada de Guadalajara. Se evaluó el efecto de la fecha de siembra en la tasa relativa de crecimiento (TRC) y sus componentes en 39 herbáceas nativas del APFFBP. Las semillas fueron sembradas en julio de 2015 en parcelas de 1 m². A cada parcela se le agregó una mezcla con un adherente, un aglutinante, un abono y 5 lt de agua. El diseño experimental fue completamente al azar con dos tratamientos (siembra solo con leguminosas: T1 y siembra con todas las especies 15 días después: T2. Se midió la cobertura (%) y densidad de todas las especies y Tasa Relativa de Crecimiento (TRC) y sus componentes en dos cosechas (la primera a los 30 y a los 95 días después de la siembra). *Dalea leporina* registró la cobertura más alta y *Cosmos bipinnatus* la mayor densidad. *Cosmos sulphureus* y *C. bipinnatus* registraron la TRC mayor en los tratamientos 1 y 2, respectivamente. *Desmodium sericophyllum* y *D. aparines* registraron el mayor Coeficiente del Área Foliar. *Cosmos bipinnatus* presentó la Tasa de Asimilación Neta más alta.

INTRODUCCIÓN

Uno de los retos de la restauración ecológica consiste en encontrar especies nativas que puedan establecerse en estos suelos y que generen condiciones adecuadas para el desarrollo de la sucesión secundaria (Lamb *et al.*, 2005). El Área de Protección de la Flora y Fauna La Primavera (APFFLP), es la principal área forestal cercana a la zona metropolitana de Guadalajara, provee de bienes y servicios ambientales a la zona conurbada de Guadalajara. Ésta zona funciona como un hábitat crítico para 961 especies de plantas vasculares, de las cuales 59 son orquídeas; 29 especies de mamíferos y 135 especies de aves (SEMARNAT, 2000). Sin embargo, en la última década el APFFLP ha sufrido severos impactos tales como pérdida de la cobertura vegetal por incendios, sobrepastoreo, entre otros, por lo que existe la necesidad de implementar actividades para la restauración ecológica. Esta investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de la fecha de siembra en el crecimiento de 39 especies herbáceas nativas con potencial para la restauración de suelos degradados del bosque La Primavera.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del área de estudio. El área de trabajo está ubicada en la parcela "De la mujer" que pertenece al Ejido Emiliano Zapata, con coordenadas 20°42'00" N y 103°35'35.37" O, en el municipio de Zapopan, Jalisco, México. En julio de 2014 fueron sembradas en campo semillas de 39 especies en parcelas de 1 m² (Cuadro 1). Se agregó una mezcla para simular una hidrosiembra (Bradshaw, 1983), la cual estuvo compuesta por un adherente, un aglutinante (bentonita: 100 g), abono orgánico y 5 litros de agua. Ésta mezcla se añadió de forma manual y homogénea en todas las parcelas. Se evaluaron dos tratamientos: T1 únicamente se sembraron las fabáceas y en el T2 15 días después se agregaron las especies restantes. El diseño experimental fue completamente al azar con dos tratamientos y cinco repeticiones.

El primer mes después de la siembra se registraron la cobertura y la densidad de individuos en cada parcela. La tasa relativa de crecimiento (TRC) se evaluó para cinco especies y se estimó

mediante dos cosechas, la primera a 55 días después de iniciado el experimento y la segunda en 95 días. Fueron cosechadas cinco plantas por especie; en cada una se separaron las partes aéreas (hojas y tallos) y la parte subterránea (raíces) para obtener su biomasa. El área foliar se obtuvo digitalizando imágenes de las hojas. La tasa relativa de crecimiento (TRC, $\text{mg}^{-1}\text{g}^{-1}\text{día}^{-1}$) y sus componentes (Coeficiente del Área Foliar: CAF y Tasa de Asimilación Neta: TAN) se calcularon de acuerdo a Cardillo y Bernal (2006). Las variables de densidad y cobertura fueron analizadas con ANOVA de una vía por especie y por tratamiento. La tasa relativa de crecimiento (TRC) y sus componentes se analizaron con ANOVA de dos vías con especie y tratamiento como factores.

Cuadro 1. Lista de especies colectadas en el Bosque La Primavera.

Especie	Familia
<i>Aegopogon cenchroides</i> Humb. & Bonpl. ex Willd.	Poaceae
<i>Amaranthus hybridus</i> L.	Amaranthaceae
<i>Aristida appressa</i> Vasey.	Poaceae
<i>Aristida divaricata</i> Humb. & Bonpl. ex Willd.	Poaceae
<i>Aristida purpurea</i> Nutt.	Poaceae
<i>Aristida ternipes</i> Cav.	Poaceae
<i>Bidens pilosa</i> L.	Asteraceae
<i>Bidens odorata</i> Cav.	Asteraceae
<i>Bouteloua radicata</i> E. Fourn	Poaceae
<i>Bromus anomalus</i> Rupr. ex E. Fourn.	Poaceae
<i>Chloris virgata</i> Sw.	Poaceae
<i>Cosmos bipinnatus</i> Cav.	Asteraceae
<i>Cosmos sulphureus</i> Cav.	Asteraceae
<i>Crotalaria sagittalis</i> L.	Fabaceae
<i>Crotalaria pumila</i> , Ortega	Fabaceae
<i>Cyperus manimae</i> Kunth.	Cyperaceae
<i>Dalea leporina</i> (Aiton) Bullock	Fabaceae
<i>Desmodium sericophyllum</i> Schltld.	Fabaceae
<i>Desmodium aparines</i> (Link) DC.	Fabaceae
<i>Desmodium distortum</i> (Aubl.) J.F. Macbr.	Fabaceae
<i>Desmodium macrostachyum</i> Hemsl.	Fabaceae
<i>Eragrostis plúmbea</i> Scribn. ex Beal	Poaceae
<i>Macroptilium gibbosifolium</i> (Ortega) A. Delgado	Fabaceae
<i>Muhlenbergia minutissima</i> (Steud.) Swallen	Poaceae
<i>Paspalum cobexum</i> Humb. & Bonpl. ex Flüggé	Poaceae
<i>Paspalum notatum</i> Alain ex Flüggé	Poaceae
<i>Paspalum plicatulum</i> Michx.	Poaceae
<i>Pereilema ciliatum</i> E. Fourn.	Poaceae
<i>Salvia laevis</i> Benth.	Lamiaceae
<i>Setaria pumila</i> (Poir.) Roem. &Schult.	Poaceae
<i>Sida collina</i> Schltld.	Malvaceae
<i>Sida rhombifolia</i> L.	Malvaceae
<i>Sporobolus indicus</i> (L.) R. Br.	Poaceae
<i>Tagetes filifolia</i> Lag.	Asteraceae
<i>Tagetes lunulata</i> Ortega.	Asteraceae
<i>Tagetes micrantha</i> Cav.	Asteraceae
<i>Zinnia angustifolia</i> Kunth.	Fabaceae
<i>Zornia thymifolia</i> Kunth.	Fabaceae

REULTADOS

Dalea leporina presentó mayor cobertura que el resto de las especies ($H=75.1$, $p<0.001$). En cuanto a la densidad *Cosmos bipinnatus* registró la densidad más alta ($H=72.47$, $p<0.001$). El crecimiento varió por efecto de la especie y el tratamiento, en el T2, *Cosmos bipinnatus* obtuvo la tasa relativa de crecimiento más alta, en contraste con *C. sulphureus* que presentó el crecimiento más bajo en el T1 (Figura 1).

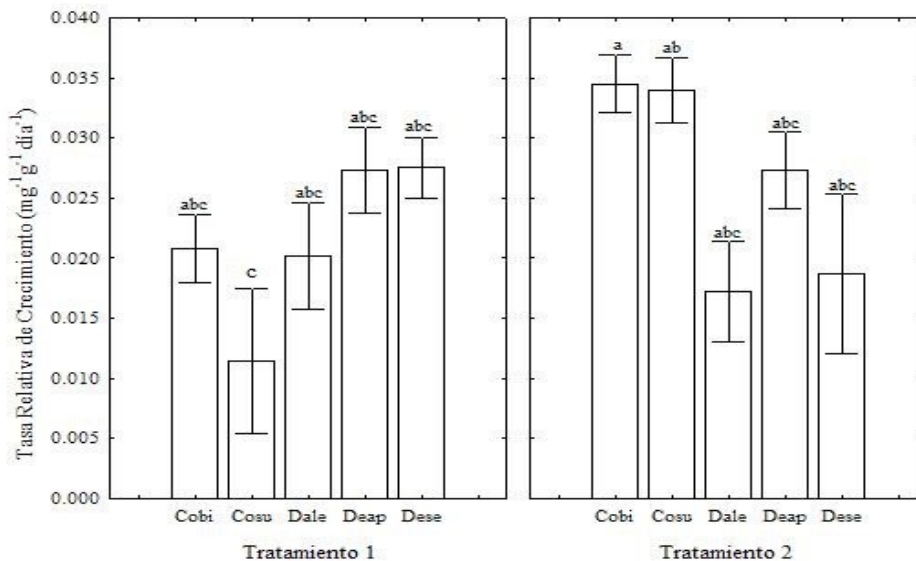


Figura 1. Promedios (\pm EE) de la Tasa Relativa de Crecimiento en cinco especies (*Cosmos bipinnatus*: Cobi, *C. sulphureus*: Cosu, *Dalea leporina*: Dale, *Desmodium aparines*: Deap y *D. sericophyllum*: Dese). Letras diferentes denotan diferencias entre especies en el tratamiento según la Prueba de Tukey ($p < 0.05$).

En el T1 *Desmodium sericophyllum* y *D. aparines* obtuvieron el coeficiente del área foliar más alto, comparado con *C. bipinnatus* que fue el más bajo (Figura 2). La tasa de asimilación neta varió entre especies, *C. bipinnatus* presentó una TAN 56.8 % más alta que el resto de las especies, (*Cosmos bipinnatus*: 0.0006 ± 0.00004 ; *Cosmos sulphureus*: 0.0003 ± 0.00006 ; *Dalea leporina*: 0.0003 ± 0.00006 ; *Desmodium aparines*: 0.0002 ± 0.00003 ; *Desmodium sericophyllum*: 0.00015 ± 0.00003).

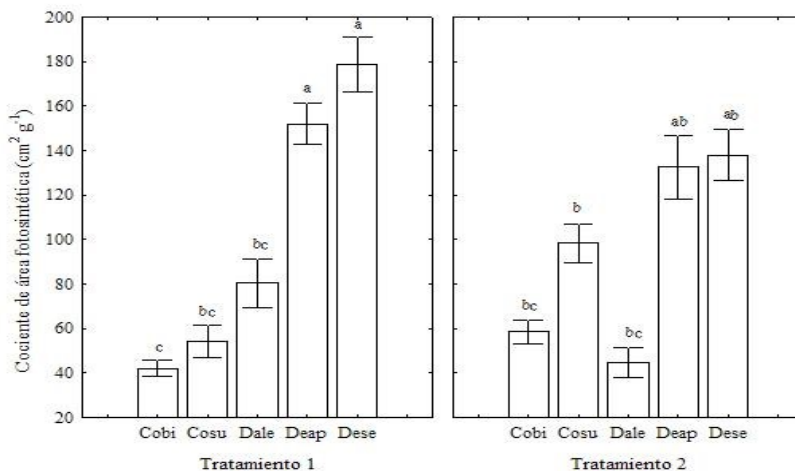


Figura 2. Promedios (\pm EE) del Coeficiente del Área Foliar en cinco especies (*Cosmos bipinnatus*: Cobi, *C. suphureus*: Cosu, *Dalea leporina*: Dale, *Desmodium aparines*: Deap y *D. sericophyllum*: Dese). Letras diferentes denotan diferencias entre especies en el tratamiento según la Prueba de Tukey ($p < 0.05$).

DISCUSIÓN

Uno de los principales objetivos de la restauración ecológica es acelerar el proceso de regeneración y aumentar la cobertura vegetal (Rondón y Vidal, 2005). Por otra parte, Odhiambo y colaboradores (2010), indican que la fecha de siembra es una variable determinante en la acumulación de materia seca y nitrógeno en los cultivos de cobertura. Sin embargo, dado el potencial para interacciones competitivas entre las leguminosas y otras especies como gramíneas y asteráceas, la fecha de siembra puede jugar un papel primordial en el crecimiento (Castillo-Caamal y Caamal-Maldonado, 2011). De acuerdo a los resultados obtenidos se esperaba que las leguminosas que fueron sembradas 15 días antes (T2) que el resto de las especies mostraran mayor cobertura, sin embargo no hubo diferencias por efecto de las fechas de siembra, pero sí entre especies; *Dalea leporina* presentó mayor cobertura en ambos tratamientos que el resto de las especies, por lo que esta especie puede considerarse como buena opción para restaurar suelos en el BLP.

Cosmos bipinnatus tuvo la mayor tasa de crecimiento relativo en el T2, lo cual nos indica que es una especie competitiva (Grime, 2001). El coeficiente del área foliar es una de las principales variables que afectan al crecimiento de las plantas (Valladares *et al.*, 2008). *Desmodium sericophyllum* y *D. aparines* en promedio presentaron el CAF más alto en el T1, plantas con mayor CAF están adaptadas a ambientes sombreados para incrementar el área de exposición y adquirir mayor luz (Villar *et al.*, 2004). Presentar una tasa de asimilación alta es vital para especies que crecen en espacios abiertos con altas demandas de luz, donde son importantes las adaptaciones fisiológicas que les ayudan a equilibrar la capacidad fotosintética y los gastos en la respiración (Valladares *et al.*, 2008). En este estudio, *Cosmos bipinnatus* presentó la mayor TAN que el resto de las especies, lo que significa que está adaptada a niveles de radiación altas (Miquelajauregui y Valverde, 2010) y por tanto es una planta con potencial para la restauración.

CONCLUSIONES

Los componentes de la tasa relativa de crecimiento revelaron diferentes estrategias de adaptación como una respuesta especie-específica.

La mayoría de las especies leguminosas estudiadas en este trabajo presentaron altos porcentajes de cobertura y su densidad no fue afectada por la presencia de otras especies, por lo que son la

mejor opción para iniciar procesos de sucesión vegetal para restaurar suelos degradados en el Bosque La Primavera, siendo así también es recomendable utilizar el resto de las especies debido a que es factor de suma importancia mantener la biodiversidad para la restauración.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cardillo E. y C.J. Bernal 2006. Morphological response and growth of cork oak (*Quercus suber* L.) seedlings at different shade levels. *Forest Ecology and Management* 222:296-301.
2. Castillo-Caamal, J.B. y Caamal-Maldonado J.A. 2011. Efecto de la fecha de siembra del frijol terciopelo (*Mucuna* sp.) como cultivo de cobertera en el rendimiento del maíz. *Tropical and subtropical Agroecosystems* 14:101-108.
3. Grime J.P. 2001. *Plant strategies, vegetation processes and ecosystem properties*. 2a. ed. John Wiley and Sons, Chichester, UK.
4. Lamb D., Erskine P. & Parrota J. 2005. Restoration of degraded tropical forest landscapes. *Science* 310:1628-1632.
5. Miquelajauregui Y. y Valverde T. 2010. Survival and early growth of two congeneric cacti that differ in their level of rarity. *Journal of Arid Environments* 74:1624-1631.
6. Rondón J.A. y Vidal R.R. 2005. Establecimiento de la cubierta vegetal en áreas degradadas (principios y métodos). *Revista Forestal Latinoamericana* 38:63-82.
7. SEMARNAT. 2000. Programa de Manejo Área de Protección de Flora y Fauna La Primavera. Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. CONANP, D.F. México. 132 p.
8. Valladares F., Aranda I. y Sánchez-Gómez D. 2008. La luz como factor ecológico y evolutivo para las plantas y su interacción con el agua. En: Valladares F. (Ed.). *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*, pp. 335-369. 2da ed Ministerio de Medio Ambiente, EGRAF, S. A., Madrid.
9. Villar R., Ruiz-Robledo J. Quero J. L., Poorter H., Valladares F. y Marañón T. 2004. Tasas de crecimiento en especies leñosas: aspectos funcionales e implicaciones ecológicas. En: Valladares F. (Ed.). *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*, pp 191-227. Ministerio de Medio Ambiente, Madrid.

DEGRADACIÓN DE MOLÉCULAS NO BIODEGRADABLES MEDIANTE EL PROCESO DE OXIDACIÓN AVANZADA, REACCIÓN DE FENTON. DEGRADACIÓN DE COLORANTES DERIVADOS DE LA TARTRAZINA

Erika Méndez Albores, José Armando Narváez Padilla, Alan Morales Rodríguez, José Albino Moreno Rodríguez, Alfonso Daniel Díaz Fonseca, José Genaro Carmona Gutiérrez

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

RESUMEN

Procesos de Oxidación Avanzada, se definen como procesos que generan y utilizan el radical libre hidróxido $\bullet\text{OH}$, este está considerado como oxidante muy poderoso que puede oxidar compuestos que no pueden ser oxidados por oxidantes convencionales: oxígeno, ozono o cloro ⁽¹⁾. Reacciona con las especies químicas disueltas, iniciando una serie de reacciones de oxidación hasta que los constituyentes son completamente mineralizados a CO_2 y H_2O . Diferentes procesos de oxidación avanzada han sido desarrollados y examinados para la degradación de diferentes contaminantes tanto en compuestos inorgánicos como orgánicos. Los reactivos utilizados en este proyecto son sulfato ferroso, peróxido de hidrógeno y la muestra que es motivo de una degradación es amarillo naranja que contiene entre 85 y 89 % de tartrazina pura. Se preparan las soluciones de sulfato ferroso, peróxido de hidrógeno y una solución de colorante en medio ácido; una vez preparados los reactivos se procede a llevar a cabo las reacciones de degradación, a las muestras obtenidas se determina su espectro de UV-visible y posteriormente también se determina su espectro de infrarrojo. Los resultados observados en las dos técnicas apuntan que se está llevando a cabo una degradación del colorante.

INTRODUCCIÓN

Algunos procesos de oxidación avanzada son los siguientes, según lo plantea Parag R. et al ⁽¹⁾:

- 1.- La cavitación (generada ya sea por medio de irradiación ultrasónica o usando constricciones tales como válvulas, orificios en dispositivos hidráulicos).
- 2.- Oxidación fotocatalítica (Usando radiación UV/luz UV cercana/Luz solar en presencia de un semiconductor catalizador).
- 3.- Química Fenton (usando la reacción entre sulfato ferroso y peróxido de hidrógeno).
- 4.- Métodos híbridos. Estos procesos pueden ser usados también en combinaciones tales como: Fenton asistida con ultrasonido; Sonofotocatalítico; Photo-Fenton; $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$. Para obtener la eficiencia de la oxidación mejorada y superar las limitaciones y dificultades de los procesos de oxidación avanzados individuales hacia algunos contaminantes específicos.

En la presente investigación trabajamos con la Tartrazina que posee los códigos E102 (UE) y Yellow 5 (FDAUSA), es ampliamente utilizada en la industria alimenticia y aunque es inocua en bajas concentraciones, su ingestión en grandes cantidades puede provocar reacciones alérgicas, como asma y urticaria. También está relacionada con la hiperquinesis en los niños y con tumores en la glándula tiroides, evidencias que han motivado a países como Noruega y Austria a prohibir su uso. ¿Los POA, procesos de oxidación avanzada, es una herramienta que puede contribuir a resolver el problema de contaminación del medio ambiente, degradando aquellas sustancias que difícilmente se degradan de manera natural o por otros métodos?. En el presente trabajo de investigación conviene estudiar los procesos de oxidación avanzada ya que prometen ser métodos más eficientes para la eliminación de contaminantes no biodegradables que se encuentran contenidos en aguas superficiales y subterráneas y en otros medios donde también hay sustancias que se caracterizan por ser no biodegradables. El estudio e investigación de este método es importante para la sociedad, en la medida que trata de resolver varios fenómenos que afectan el medio ambiente y que sí se tiene éxito beneficiará a diferentes sectores sociales, porque se degradará desde aquellas sustancias tóxicas hasta sustancias que no contaminan. Este trabajo de

análisis, estudio e investigación trata de resolver varios problemas de contaminación del medio ambiente, ya que hasta ahora se han reportado diversas investigaciones que contemplan la combinación de procesos de oxidación con procesos biológicos, por lo tanto tiene implicaciones muy importantes, resaltando su gran potencial ante el problema en tratamiento de aguas contaminadas con pesticidas o herbicidas, farmacéuticos, tintes, grasas, residuos de la industria papelería, lixiviados, industria aceitera, industria minera. Hay publicaciones sobre los procesos de oxidación avanzada, los resultados permitirán generalizar la investigación para diversos compuestos que están considerados como no biodegradables; los resultados pueden servir para que en las diversas investigaciones pueda haber una retroalimentación de la información y así desarrollar el conocimiento que se tiene actualmente de este método; nos permitirá tener una amplia relación de los diferentes parámetros que se van presentando en la aplicación del método y de las características físicas y químicas de las sustancias contaminantes; la investigación seguramente ofrecerá la posibilidad de que la experiencia acumulada se pueda explotar fructíferamente para resolver problemas similares o de otra índole; esperamos contribuir con nuevos conocimientos que se sumarán a toda la experiencia anterior y surgirán nuevas ideas para un mejor trabajo experimental, nuevas recomendaciones, nuevas hipótesis para las futuras investigaciones. El propósito de esta investigación es degradar químicamente a la tartrazina, por medio del proceso de oxidación avanzada, por la reacción de Fenton; los productos serán analizados por técnicas espectroscópicas y valorar cual es el procedimiento más adecuado.

TEORÍA

La fórmula estructural del colorante conocido como tartrazina, la vemos en la figura 1.

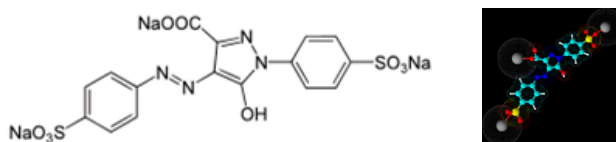
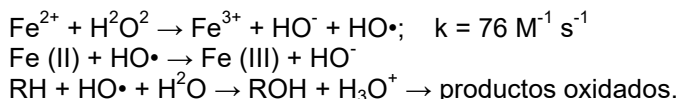


Figura 1. – Tartrazina

La reacción química general de la biodegradación, que es el propósito de esta investigación es la siguiente: $C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2 + FeSO_4 + H_2O_2 \rightarrow CO_2 + H_2O + N_2 + Na_2SO_4 + HNO_3$. Los productos son sustancias inorgánicas no tóxicas ni contaminantes, para su degradación utilizamos el reactivo de Fenton, que es una mezcla de peróxido de hidrógeno e ion ferroso (Fe^{2+}), lo cual produce el radical libre hidroxilo ($\bullet OH$) y el ion férrico (Fe^{3+}), esta reacción es muy conocida, sobre todo en los procesos biológicos, todos los animales necesitan O_2 para la producción eficiente de la energía en la mitocondria, las diferentes etapas de la reacción química son las siguientes:

- 1.- $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + HO\cdot + OH^-$
- 2.- $Fe^{3+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{2+} + HO_2\cdot + H^+$
- 3.- $RH + HO\cdot \rightarrow R\cdot + H_2O$
- 4.- $R\cdot + Fe^{3+} \rightarrow R^+ + Fe^{2+}$
- 5.- $R^+ + OH^- \rightarrow R-OH$

Las tecnologías avanzadas de oxidación también conocidas por sus siglas como (TAO) o como procesos de oxidación avanzada (POA), se basan en procesos fisicoquímicos capaces de producir cambios a gran escala sobre la estructura química, sobre la composición, sobre las características de la materia de un contaminante, hablando ya de forma aplicada hacia el tratamiento de aguas residuales, los cambios que se dan en la materia son producto de la intervención de una especie transitoria con un especial poder reductor, fundamentalmente esta especie será un radical libre y el más común, es decir, el radical hidroxilo ($HO\cdot$). Este radical como bien se mencionó se genera gracias a métodos fotoquímicos o bien por otras formas de energía y se caracteriza por poseer una alta capacidad traducida en eficacia para llevar a cabo la oxidación. La combinación de Fe^{2+} y H_2O_2 va a generar radicales $HO\cdot$, que a su vez van a reaccionar a continuación por dos vías: La oxidación de Fe (II) (reacción improductiva) y el ataque a la materia orgánica.



PARTE EXPERIMENTAL

Los reactivos que se utilizan son sulfato ferroso, peróxido de hidrógeno al 30 % y amarillo naranja que contiene entre 85 y 89 % de tartrazina pura. Se prepara una solución de sulfato ferroso 0.1M, se prepara una solución de peróxido de hidrógeno 0.1M y una solución de tartrazina 0.1M en medio ácido; una vez preparados los reactivos se procede a llevar a cabo las reacciones de degradación, se va desarrollando cada una de las reacciones químicas, durante una hora, en el orden que se plantea en la tabla 1, inmediatamente se determina su espectro de UV-visible y posteriormente su cinética.

Muestra	FeSO ₄ 0.1 M (mL)	H ₂ O ₂ 0.1 M (mL)	Tartrazina 0.1 M (mL)	Volumen
1	10	0	40	50
2	9	1	40	50
3	8	2	40	50
4	7	3	40	50
5	6	4	40	50
6	5	5	40	50
7	4	6	40	50
8	3	7	40	50
9	2	8	40	50
10	1	9	40	50
11	0	10	40	50

Tabla 1. – Valores del procedimiento experimental.

Se presentan a continuación la imagen de cada una de las reacciones del sistema de mezclas ideado para observar la degradación, la cual se logra con un aumento de volumen de Peróxido de Hidrogeno y una disminución del volumen de Sulfato Ferroso. Se observa por simple inspección un cambio en la coloración, esto se observa en figura 2.



Figura 2. – La degradación paulatina de la tartrazina.

RESULTADOS

Espectroscopia UV-visible: Al producto de las reacciones químicas para cada una de las muestras analizadas, donde se cambia la concentración del sulfato ferroso y la concentración del peróxido de hidrógeno, manteniendo constante el volumen de la solución preparada de tartrazina, se le determina su espectro UV-visible, los resultados encontrados se muestran en la figura 3. Se puede observar que la reacción química de fenton causa una degradación paulatina de la molécula de tartrazina, a una longitud de onda máxima, λ_{max} , = 365 nm y una absorbancia de 2.40 u.a que corresponde a la muestra 3 y es característica del grupo funcional azo y sus derivados y que se encuentra en la molécula de tartrazina; hay en las siguientes muestras longitudes de onda máxima que van disminuyendo desde 359, 350, 354, 344, 336, 331 para las muestras 4, 5, 6, 7, 8, 9, respectivamente y su absorbancia también disminuye 2.55, 2.34, 2.25, 2.37, 2.61, 1.56 u.a.

respectivamente, lo cual nos muestra una degradación, puesto que hay una disminución de la concentración del grupo azo; para las muestras 10, 11 y 12 la longitud de onda máxima es de 322 nm pero la absorbancia va de 1.39, 0.350 y 0 u.a, es característico de los grupos funcionales carbonilo y metileno, lo cual se podría comparar con la presencia de carbonilo y grupos metileno derivados del benceno, pero si la absorbancia es cero nos muestra una degradación completa de la molécula de tartrazina; hay una longitud de onda máxima a 290 nm pero con absorbancia igual a 0.256 u.a. que probablemente nos muestra la presencia de CO₂; cuando la longitud de onda máxima corresponde a 316 cm⁻¹, todas las muestras presentan esta longitud de onda pero hay una disminución paulatina hasta llegar a cero, excepto la muestra 11 y 12, porque probablemente la solución esté impregnada de dióxido de carbono.

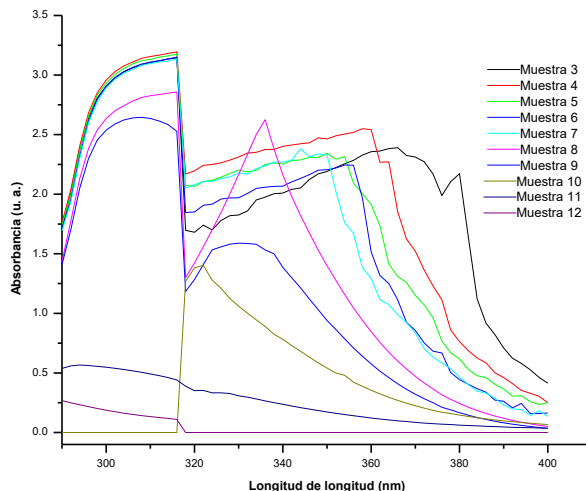


Figura 3. – Espectro UV-visible

Espectroscopia IR: Se analizaron las muestras 1, 2, 3, 10 y la solución acuosa de la tartrazina, como se puede observar en la figura 4, se observa una banda ancha en cada espectro con número de onda igual a 3273 cm⁻¹ y se asigna a la presencia del grupo funcional de OH con vibración de torsión correspondiente a la molécula de agua, a 1632 cm⁻¹ la molécula de CO₂, absorbe energía; cuando tenemos un número de onda en 1632 cm⁻¹, tenemos una banda de absorción correspondiente al modo de vibración de OH por estiramiento; a 590 cm⁻¹ hay una banda muy ancha correspondiente a la frecuencia de vibración que se puede atribuir al anillo aromático de la tartrazina, que hasta este momento es una solución acuosa que no ha entrado a la reacción con el ion ferroso y el peróxido. En cambio para las muestras 1, 2, 3, 10, esta banda desaparece.

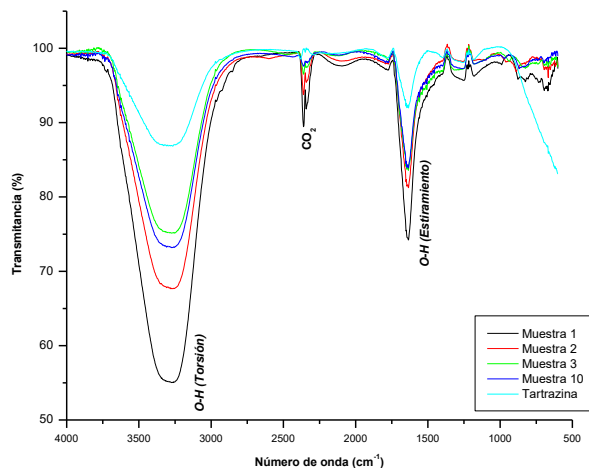


Figura 4. – Espectros de la tartrazina.

Cinética de la reacción: Se hace un análisis de la degradación de la tartrazina a través de su cinética, considerando primero la cinética cuando se combina la tartrazina con el sulfato ferroso, en segundo lugar la tartrazina con la reacción de fenton cuando las concentraciones son iguales y finalmente la tartrazina con el peróxido de hidrógeno, los que nos permite ver los resultados obtenidos por la cinética de la reacción, observada por la absorbancia que hay durante un cierto tiempo: En la primera cinética se puede observar tres cambios químicos en los 600 segundos iniciales, aunque su pendiente es muy pequeña, cuando observamos la segunda cinética, su pendiente es mayor y por tanto ocurre una degradación total; en la tercera cinética observamos una pendiente muy alta pero no se observa alguna degradación.

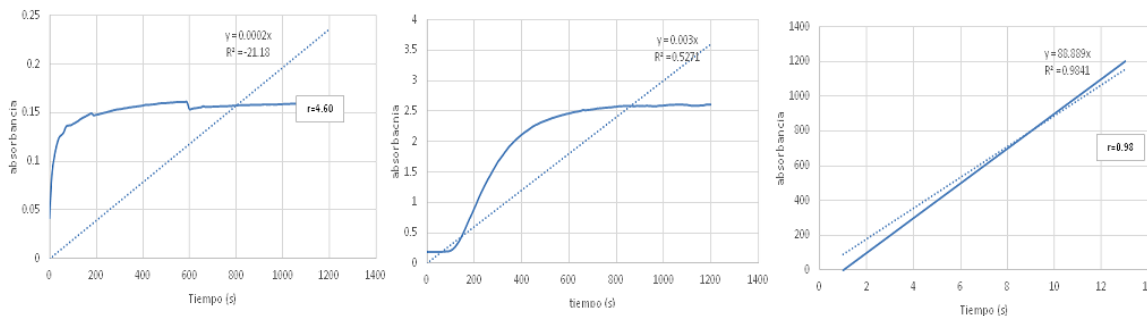


Figura 5. – Cinéticas de la reacción fenton.

CONCLUSIONES

- En el presente trabajo se presenta una forma experimental para la degradación de una molécula que está caracterizada como no biodegradable, utilizando la reacción química de fenton, donde el ion ferroso se oxida por la presencia del peróxido de hidrógeno que es un compuesto que se identifica como un oxidante fuerte, y la combinación de estas especies químicas forman una reacción química que se encuentra dentro de los procesos de oxidación avanzada.
- Por los resultados de UV-visible, se concluye que hay una degradación paulatina, es decir que disminuye ligeramente la longitud de onda máxima, pero sobre todo que hay una disminución de la absorbancia. Hay una degradación del grupo azo, pasando por grupos carbonilo y metileno hasta moléculas de CO₂.

- El espectro de infrarrojo de la solución de tartrazina antes de interaccionar con la reacción fenton y los espectros cuando se produce la interacción, dejan la evidencia de que se produce una degradación de la molécula de tartrazina.
- Por los resultados del estudio de la cinética de la reacción, se concluye que solo la interacción de la reacción fenton, se produce eficazmente la degradación de la molécula de tartrazina.

BIBLIOGRAFÍA

1. Parag R. Gogate and Aniruddha B. Pandit, "Sonophotocatalytic Reactors for Wastewater treatment: A critical review" *AICHE Journal*, Volume 50, issue 5, pages 1051-1079, May 2004.
2. Krzysztof Barbusinski, Fenton reaction-controversy concerning the Chemistry, *Ecological Chemistry and engineering S*, Volumen 16, Número 3, 2009.
3. García-Gómez, C., P. Gortáres-Moroyoqui y P. Drogi (2011), "Tratamientos biológicos y de oxidación avanzada combinados para una solución a la biotecnología ambiental", *Idea@s CONCYTEG*, 6 (71), pp 585-605
4. Arroyave Rojas, Joan Amir; Garcés Giraldo, Luis Fernando; Mejía Trujillo, Julieta. Empleo del reactivo de Fenton para la degradación del colorante Tartrazina. *Revista Lasallista de Investigación*, vol. 6, núm. 1, enero-junio, 2009, pp. 27-34. Corporación Universitaria Lasallista Antioquia, Colombia.

EFFECTO DE ACETONACIANOHRINA SOBRE LA MOTRICIDAD EN RATAS Y NEUROPROTECCIÓN DE ESTRADIOL Y PROGESTERONA

Sánchez- Sánchez GR, Bernal- Morales B, Rivadeneyra- Domínguez E, Rodríguez- Landa JF, Rosas- Jarquín CJ

Facultad de Química Farmacéutica Biológica, Universidad Veracruzana.
Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana.

RESUMEN

La acetonecianohidrina es un glucósido cianogénico contenido en la yuca, que se descompone en acetona y ácido cianhídrico ocasionando toxicidad neuropática en la rata macho Wistar; pero se desconoce su efecto en las hembras ovariectomizadas que reciben progesterona y estradiol como posibles neuroprotectores. Objetivo: Comparar el efecto de acetonecianohidrina en ratas macho y hembras sobre las alteraciones motoras y determinar el efecto protector de progesterona y estradiol en la rata hembra. Método: Se emplearon seis grupos de ratas: vehículo machos (n=8), vehículo hembras (n=9), acetonecianohidrina 20mM machos (n=8), acetonecianohidrina 20mM hembras (n=9), progesterona+estradiol hembras (n=9), y acetonecianohidrina 20mM +progesterona+estradiol hembras (n=9), que recibieron el tóxico por vía intraperitoneal durante 28 días, mientras que las hormonas se administraron vía subcutánea una vez por semana durante cuatro semanas. Los efectos conductuales fueron evaluados cada 7 días en la prueba de rota-rod y nado. En el día 28, se cuantificaron las hormonas estradiol y progesterona en muestras sanguíneas de los animales. Los datos fueron analizados mediante ANOVA de una vía y la prueba *post hoc* de Duncan cuando $p \leq 0.05$. Resultados: El análisis conductual reveló que la latencia a la caída en la prueba de rotarod fue menor en los machos en comparación con las hembras. En la prueba de nado no se desplegaron los giros, ni en el nado lateral en hembras ovariectomizadas que recibieron acetonecianohidrina. En esta misma prueba la administración de hormonas disminuyó la desesperanza en las hembras causando menor inmovilidad. El nivel hormonal fue mayor en las hembras que recibieron la inyección de estradiol y progesterona. Conclusión: Las ratas hembras son más resistentes a la alteración motora producida por acetonecianohidrina comparado con los machos, demostrando un dimorfismo sexual probablemente asociado al efecto neuroprotector de progesterona y estradiol que atenuó los efectos del glucósido cianogénico.

INTRODUCCIÓN

La yuca es un arbusto originario de América latina, su raíz es utilizada principalmente como alimento (FAO/FIDA, 2008); hace algunos años era el cuarto cultivo mundial más importante en los países en desarrollo, después del arroz, maíz y trigo (Laurent *et al.*, 2001), por ser una de las fuentes de carbohidratos rica en almidón, pero no en proteínas y vitaminas (Ospina y Ceballos, 2002). Además de servir como alimento humano, la yuca se emplea para la alimentación animal (raíces secas y follaje) y en la industria de almidones, alcoholes y textiles. La yuca es una planta cianogénica, en su raíz hay glucósidos cianogénicos linamarina y lotaustralina que se degradan en acetonecianohidrina y glucosa, quienes a su vez se descomponen en ácido cianhídrico (Da Silva *et al.*, 2008; COVECA, 2010). En África, varios problemas de salud están relacionados con el consumo de yuca, debido al subdesarrollo, falta de recursos para salud y alimentación, baja escolaridad y falta de información en general sobre su destoxificación (Cereda *et al.*, 2003). La dieta a base de yuca es asociada con el desarrollo de dos enfermedades neurológicas: Neuropatía Atáxica Tropical (TAN) y Konzo (Llorens, 2004; Rivadeneyra-Domínguez *et al.*, 2012). Se ha demostrado en experimentos con ratas, que la acetonecianohidrina produce una degeneración neuronal y daños irreversibles en la neuromotricidad incluso teniendo en cuenta las limitaciones de un modelo animal, este hallazgo sugiere una posible contribución de este metabolito con las enfermedades neurológicas previamente mencionadas. Hasta ahora los estudios se habían

realizado en ratas macho pero no en hembras, para evitar la influencia de las oscilaciones hormonales del ciclo estral en ellas.

Con respecto a las hormonas ováricas, se sabe que aparte de sus funciones reproductivas también producen efectos ansiolíticos y antidesesperanza por acciones directas sobre receptores neuronales membranales, actúan a través de las células endoteliales, la glía y las neuronas, ejerciendo acciones neuroprotectoras, y previenen la pérdida neuronal en varios modelos experimentales de neurodegeneración en el Sistema Nervioso Central (García-Ovejero *et al.*, 2005; Azcoitia *et al.*, 2010). Sin embargo, se desconoce el efecto de las hormonas ováricas ante la administración de acetona cianohidrina en ratas hembra. Por lo tanto, en este trabajo se explora el estudio del efecto de este tratamiento en la actividad motora de la rata hembra y su comparación con el efecto de la administración del tóxico en machos.

TEORÍA

La yuca es una planta originaria del trópico americano (COVECA, 2010), pero también ampliamente cultivada en África tropical y Asia, se ha convertido en un cultivo agroindustrial de amplio desarrollo (Laurent *et al.*, 2001), principalmente en países de América como Brasil, Guatemala y México. Se aprovechan casi todas las partes de la yuca; las hojas se usan para producir harinas y las raíces, que son la parte más consumida por los humanos, pueden ingerirse en fresco o cocinadas, o convertirse en forrajes para el ganado o insumos para la industria. La yuca es el alimento básico de casi mil millones de personas en 105 países, incluido México. Se cultiva principalmente en los estados Tabasco, Morelos, Michoacán, Yucatán, Veracruz y Guerrero, siendo el estado de Tabasco el principal productor de yuca con un 79.80% de la producción nacional (Rivera-Hernández *et al.*, 2012).

La yuca es una planta cianógena, es decir, sintetiza ácido cianhídrico (HCN), a partir de linamarina y la lotaustralina concentrados en las raíces y hojas (da Silva *et al.*, 2008). Al hidrolizarse la linamarina por medio de la acción de la enzima linamarasa genera glucosa y acetona cianohidrina, la cual se descompone en acetona y ácido cianhídrico libre gaseoso; ocasionando toxicidad en el organismo. El nivel de glucósidos cianogénicos o ácido cianhídrico total presente en la raíz o follaje de la yuca, determina la diferencia entre subespecies: amarga (mayor toxicidad) y dulces (menor toxicidad) (Cook y Sharkawy, 1988). La concentración de glucósidos cianogénicos en la raíces puede ser afectada por las condiciones ambientales de cultivo, por tanto, el consumo de variedades amargas y dulces de yuca pueden resultar peligrosas para las personas o animales (COVECA, 2010). La acetona cianohidrina (ACH), es un líquido incoloro o amarillento con un sabor amargo y olor a almendras debido a la presencia de ácido cianhídrico. Se descompone espontáneamente en presencia de agua en acetona y HCN (Sunderman y Kincaid, 2008). El metabolismo de la acetona cianohidrina ocurre a partir de la linamarina (contenido en la yuca en un 97%), a través de la enzima linamarasa que interactúa con la linamarina en el tejido de la planta cuando es destruido por maceración o trituración, en donde por la acción hidrolítica de las β -glucosidasas se obtiene acetona cianohidrina, misma que por actividad enzimática de la hidroxinitriloliasa se descompone en: acetona y HCN. La yuca es probablemente la más conocida de las plantas cianogénicas, en razón de su amplia distribución en países tropicales. En África, varios problemas de salud están relacionados con el consumo de yuca y sus derivados debido a la situación especial de subdesarrollo, falta de recursos para salud y alimentación, baja escolaridad y falta de información en general (Cereda *et al.*, 2003). El consumo de una elevada proporción de yuca en la dieta se presenta en áreas con deficiencias de alimentación, de modo que las enfermedades asociadas a la toxicidad de la yuca se complican por la presencia simultánea de malnutrición y deficiencias vitamínicas. El efecto de los glucósidos cianogénicos de la yuca parece relacionado en las enfermedades neurológicas Neuropatía Atáxica Tropical (TAN) y Konzo, que se asocian a patrones de consumo de yuca. TAN es una enfermedad crónica, progresiva, que ocurre principalmente en la población de Nigeria en África, a causa de intoxicación crónica por cianuro y se caracteriza por una combinación de mielopatía, atrofia óptica, sordera neurosensorial y polineuropatía periférica simétrica. Los pacientes desarrollan una marcha atáxica y el síndrome progresa lentamente durante años. La TAN es una enfermedad asociada al consumo de la yuca,

sin embargo, su origen alimentario no está suficientemente demostrado, a diferencia de la otra enfermedad neurológica que se le adjunta al consumo de yuca, el Konzo que es una enfermedad que aparece de forma abrupta en períodos de crisis alimentaria, en los que la yuca se mantiene prácticamente como el único alimento disponible (Llorens, 2004). Donde se ven dañadas las motoneuronas superiores, que provoca parálisis espástica de ambas piernas o de ambas piernas y brazos. El Konzo es definida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una anomalía espástica simétrica visible de la marcha al caminar o correr (Boivin *et al.*, 2013). Las personas no se ven afectadas de manera uniforme por Konzo, los niños mayores de 3 años y las mujeres en el grupo de edad fértil son más afectados que los varones adultos (Rosling *et al.*, 1992).

El dimorfismo sexual hace referencia a los diferentes aspectos biológicos del macho frente a la hembra, explica la serie de diferencias en la estructura funcional del cerebro, entre otros sistemas (García, 2003). Dentro del Sistema Nervioso Central (SNC) se encuentran diferentes núcleos que muestran dimorfismo sexual y que pueden relacionarse directamente con la fisiología y la conducta reproductiva, como el caso del núcleo arcuato de la rata. En el hipotálamo, que, entre otras funciones, participa en la regulación hormonal; se encuentra la mayor concentración de receptores para hormonas sexuales (andrógenos, estrógenos y progesterona). El dimorfismo sexual en el SNC se debe en muchos casos a la presencia de estrógenos. En los roedores de laboratorio, así como en otras especies, el estradiol es la hormona que dirige o provoca la diferenciación sexual del SNC a través de mecanismos de neurogénesis, apoptosis y diferenciación funcional de las células involucradas (García, 2003). El desarrollo de tales dimorfismos sexuales en el SNC es resultado del sexo genotípico y la acción de las hormonas producidas en las gónadas. Durante mucho tiempo, se sostuvo que las hormonas ováricas como el estradiol, la progesterona y sus metabolitos reducidos, poseían actividad biológica en el organismo de los mamíferos dando los caracteres sexuales femeninos y regulando el apareamiento, la reproducción y la agresión (Rodríguez-Landa *et al.*, 2012). Sin embargo, ejercen su influencia no sólo en áreas que intervienen en la conducta reproductiva sino también en otras relacionadas con la actividad motora, la conducta afectiva y la cognición, durante la etapa adulta ejercen amplias e importantes acciones neurales, previniendo la pérdida neuronal en varios modelos experimentales de neurodegeneración en el SNC (García-Ovejero *et al.*, 2005; Azcoitia *et al.*, 2010). Por lo tanto, el término neuroprotección se puede entender como el fenómeno en el que ocurren acciones que previenen o disminuyen las lesiones de alguna manipulación agresiva al sistema nervioso, y dicho fenómeno es causado generalmente por compuestos químicos con actividad biológica.

La investigación de los efectos neurotóxicos sobre patrones conductuales de roedores es común y las evaluaciones neuroconductuales son componentes complementarios de las pruebas de investigación básica y la toxicidad de fármacos y productos químicos ambientales (Moser, 2011). La prueba de rotarod evalúa la capacidad del sujeto para mantener la coordinación motora al caminar sobre una barra giratoria horizontal a una velocidad fija o aumentada gradualmente. Esta prueba ha sido ampliamente utilizada tanto en ratas y ratones para evaluar los efectos de las drogas y neurotóxicos (Moser, 2011). Ha sido empleado para evaluar la coordinación motora de ratas administradas con linamarina presentando una la disminución a la latencia y ejerciendo un efecto neurotóxico sobre la coordinación motora de la rata (Rivadeneira-Domínguez *et al.*, 2014). La prueba de nado por lo general, es una prueba que se utiliza en el monitoreo de fármacos con potencia antidepressiva. El método fue originalmente desarrollado por Porsolt en 1977 y modificado por Lucky en 1997, y con el paso del tiempo ha ido sufriendo otras variaciones (Díaz-Véliz y Mora, 2012). Sin embargo, por las características de la prueba también se ha utilizado para evaluar los efectos de fármacos que dañan el sistema vestibular que producen alteraciones motrices en los animales (Saavedra *et al.*, 2011); con esta finalidad última se evalúa el número de giros, definidos como los periodos en los cuales la rata no tuvo desplazamiento, nado girando sobre su propio eje, latencia a la inmovilidad y tiempo de inmovilidad. Estas conductas han sido consideradas como un indicador de deterioro motriz causado por lesiones en estructuras cerebrales relacionadas con el control motor (Saavedra *et al.*, 2011).

PARTE EXPERIMENTAL

Las manipulaciones fueron realizadas de acuerdo a los códigos Éticos Internacionales (Guide for Care and Use of Laboratory Animals publicado por el National Research Council, publication No. 85-23, 1999) y la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio. Se usaron 52 ratas adultas Wistar, con un peso de 250-300 g al comienzo del experimento. Las ratas fueron alojadas en cajas de acrílico separadas por grupos, con un ciclo de luz-oscuridad 12/12, donde tuvieron libre acceso al agua y alimento. Las ratas hembras fueron sometidas a ovariectomía, dos semanas antes de comenzar con el tratamiento.

Grupos experimentales:

Se utilizaron seis grupos de animales. El grupo 1 de hembras estuvo bajo tratamiento de solución salina y aceite de maíz, el grupo 2 de machos con solución salina, grupo 3 de machos con acetonaclorhidrina, el grupo 4 fue de hembras con acetonaclorhidrina+aceite de maíz, grupo 5 de hembras estuvo bajo tratamiento de solución salina+progesterona+estradiol y el grupo 6 fue de hembras con acetonaclorhidrina+ progesterona+estradiol. La administración se realizó todos los días y el volumen administrado fue calculado dependiendo el peso de cada individuo. Cada semana los animales fueron sometidos a pruebas conductuales.

Administración con acetonaclorhidrina (ACH):

La dosis de Acetonaclorhidrina 20mM fue 0.92mL/Kg. La concentración y volumen de acetonaclorhidrina fue tomada de estudios realizados con ratas machos donde se administraron diferentes concentraciones de Acetonaclorhidrina 10mM, 15mM y 20mM siendo ésta última la concentración que produjo alteración conductual y bioquímica en las ratas durante las pruebas (Rosas, 2015). El volumen de administración de acetonaclorhidrina fue de 0.3mL. Las ratas del grupo 1, 2, y 5 fueron administradas cada 24 horas con solución salina vía intraperitoneal. La acetonaclorhidrina fue administrada diariamente a las ratas del grupo 3, 4 y 6 y una hora antes en el día de las pruebas conductuales que se llevaron a cabo semanalmente.

Administración de estradiol y progesterona:

La dosis que se administró de progesterona 500µg y estradiol 10µg a las hembras es la reportada para producir en las ratas ovariectomizadas un estado receptivo para la cópula, porque restituye en las ratas ovariectomizadas la conducta sexual de lordosis (García, 2002; Hernández, 2002). Esta referencia indica cómo recuperar una conducta que se pierde con la ovariectomía y por lo tanto, en el presente trabajo es un acercamiento a la restitución hormonal fisiológica. 48 horas antes de las pruebas conductuales se les administró vía subcutánea estradiol y dos horas antes de dicha prueba se administró progesterona a los grupos 5 y 6, mientras que a los grupos 1 y 4 la administración fue de aceite de maíz como vehículo de las hormonas bajo las mismas condiciones que se emplearon para los grupos anteriores.

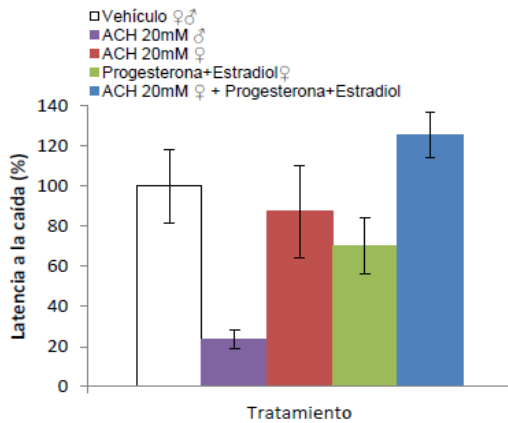
En la prueba de rotarod se colocó a la rata en un dispositivo de actividad motora que mide el tiempo durante el cual el animal camina en un rodillo horizontal que gira a una altura de aproximadamente 25 cm del piso del aparato. Cuando los animales caen del rodillo lo hacen sobre una palanca que acciona un interruptor que detiene el tiempo de rotación y lo marca en la pantalla del equipo. Se entrenaron a las ratas por 3 días previos al día de la prueba. Se evaluó la latencia a la caída a una velocidad de 18 rpm, con un máximo de tiempo de 5 min (300 segundos).

En la prueba de nado para evaluar coordinación motora se colocó al animal en un estanque de vidrio (26 X 29 cm de base X 50 cm de altura) con agua a una temperatura de 25°C ($\pm 1^\circ\text{C}$). El nivel de agua fue ajustado de manera que la rata tocara el fondo del estanque con las extremidades posteriores y la cola. Las variables a evaluar fueron el número de giros, definido como los periodos en los cuales la rata no tiene desplazamiento y nada girando sobre su eje, conducta de nado lateral definida como una conducta en el cual la rata nada lentamente sobre su lado sin mantener su balance horizontal, y la latencia y tiempo de inmovilidad definida ésta última se define como el periodo en el que la rata se encuentran suspendida en el agua sin desplazamiento, interpretada como medida de desesperanza conductual o falta de motivación para escapar de la prueba. Estas variables han sido empleadas para evaluar otros tratamientos con posibles componentes neurotóxicos.

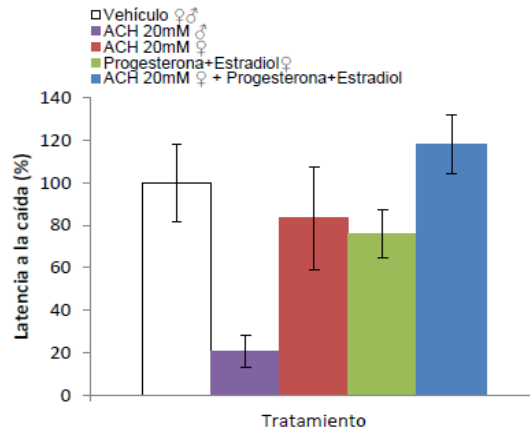
Los resultados se evaluaron con analisis de varianza (ANOVA) con $p < 0.05$ como criterio de significancia.

RESULTADOS

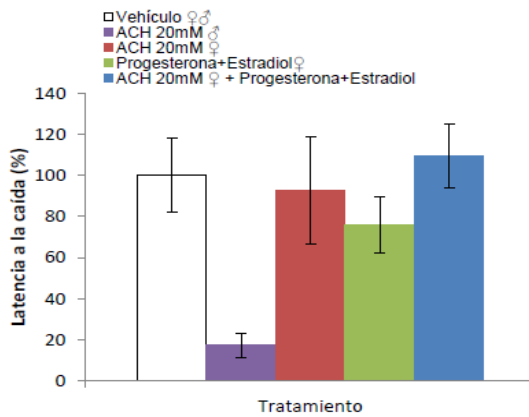
Rotarod. Latencia a la caída . No se observaron diferencias en la latencia a la caída entre el grupo vehículo machos y vehículo hembras el día basal (antes de la intoxicación) por lo tanto se unieron para formar un sólo grupo vehículo en las ANOVAS. El efecto de acetonicianohidrina (ACH) fue tal que sólo sobrevivieron cuatro machos al tratamiento de 28 días, 2 machos murieron el día 21 y los otros 2 machos murieron el día 28 antes de las pruebas conductuales. En general se observa que el grupo de machos intoxicados con ACH disminuyeron sus latencias a la caída en cada semana de prueba mientras que las hembras se mantuvieron sin cambios notables todo el tratamiento. El resultado del ANOVA de 1 vía del porcentaje de cambio en la latencia a la caída en el rotarod se ilustra en las gráficas 1-4. Aunque la ANOVA de 1 vía no revela diferencias significativas, se observa el efecto de acetonicianohidrina en los machos quienes redujeron las latencias a la caída a una quinta parte de su valor basal registrado antes de la administración con acetonicianohidrina.



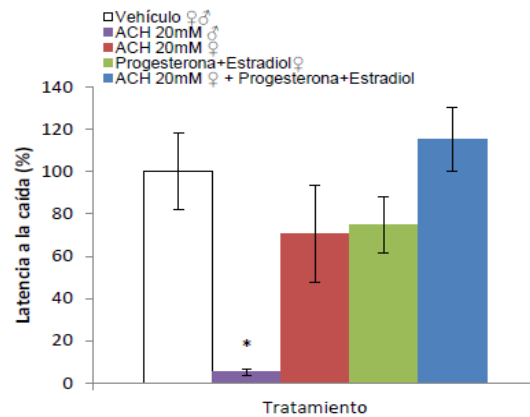
Gráfica 1. Latencia a la caída día 7. No hay diferencias significativas entre grupos $[F_{(4,47)} = 2.428; p = 0.062, NS]$



Gráfica 2. Latencia a la caída día 14. No hay diferencias significativas entre grupos $[F_{(4,47)} = 2.077; p = 0.100, NS]$



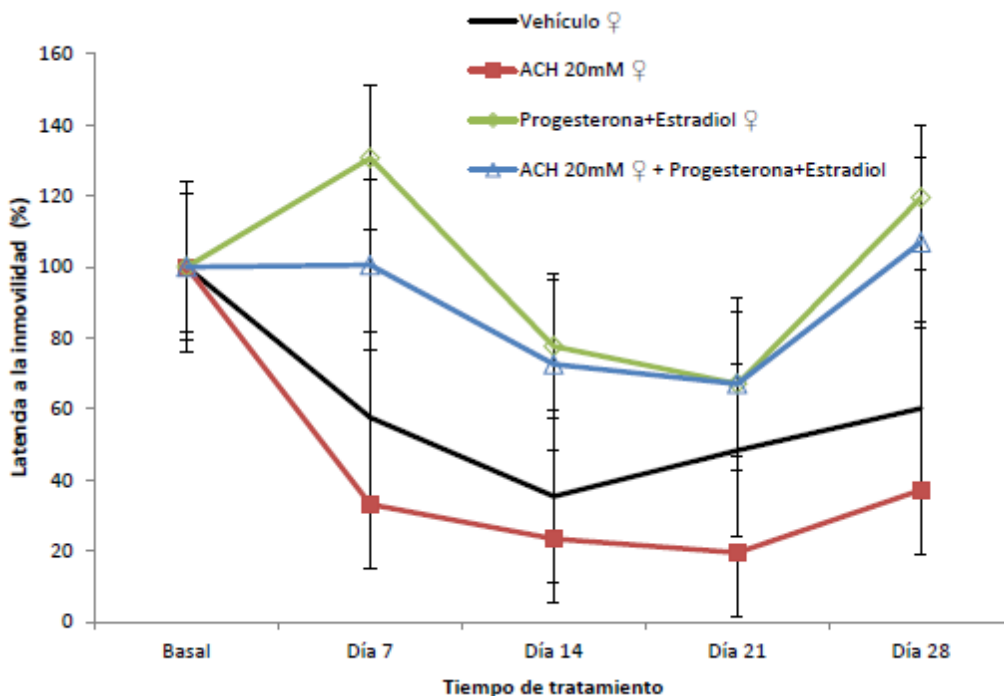
Gráfica 3. Latencia a la caída día 21. No hay diferencias significativas entre grupos [F(4,47)= 1.776; p= 0.151, NS]



Gráfica 4. Latencia a la caída día 28. Hay diferencias significativas entre grupos [F(4,47)= 2.772; p<0.039] *p< 0.05 vs todos los grupos.

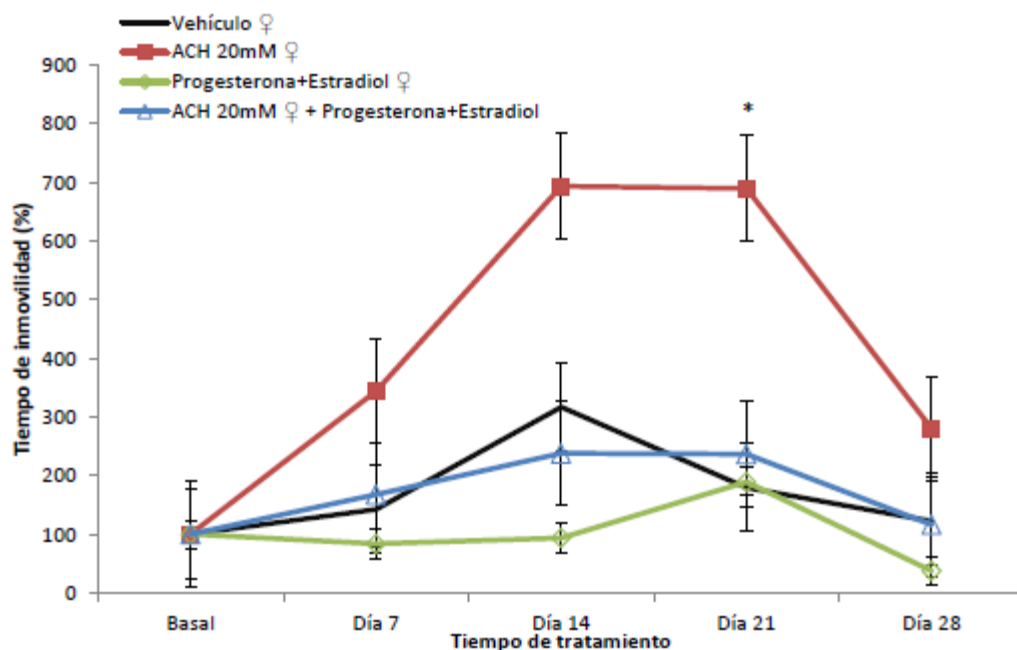
Prueba de nado. Los resultados de nado para evaluar el efecto tóxico en la actividad motora mostraron que no se presentó la variable de número de giros ni el nado lateral en ninguno de los grupos experimentales de hembras por lo que no se comparó contra los machos, y sólo se presentan la latencia y duración de la inmovilidad en hembras.

Latencia a la inmovilidad. El análisis de varianza de dos vías de la variable latencia a la inmovilidad en la prueba de nado reveló diferencias significativas [F(3,90)= 5.312; p=0.056, NS] entre los tratamientos: Vehículo ♀, Progesterona+Estradiol ♀, ACH 20mM ♀ + Progesterona+Estradiol y ACH 20mM ♀. El análisis de acuerdo a los días de tratamiento reveló diferencias significativas [F(4,90)= 2.403; p<0.002] en el día 21 y 14 con respecto al día 0, día 7, y día 28 de tratamiento. Para la interacción de estos factores, no hubo diferencias significativas [F(12,90)= 0.490; p= 0.916, NS] en esta variable (gráfica 5).



Gráfica 5. Latencia a la inmovilidad. De acuerdo a la interacción de factores no se encontraron diferencias significativas.

Tiempo de inmovilidad. El análisis de varianza de dos vías del porcentaje de cambio de tiempo de inmovilidad en la prueba de nado reveló diferencias significativas [$F(3,90) = 14.765$; $p < 0.001$] entre los tratamientos: ACH 20mM ♀, en comparación con los grupos Vehículo ♀, Progesterona+Estradiol ♀ y el grupo ACH 20mM ♀ + Progesterona+Estradiol. De igual forma, el análisis de acuerdo a los días de tratamiento también reveló diferencias significativas entre [$F(4,90) = 7.359$; $p < 0.001$]: el día 14 y 21 en comparación con el día 0, día 7 y día 28 de tratamiento. El análisis de tiempo de inmovilidad en la prueba de nado por interacción de factores, se mostraron diferencias significativas [$F(12,90) = 1.889$; $p < 0.046$], el día 7 hubo diferencias entre el grupo ACH 20mM ♀ contra el grupo Progesterona+Estradiol ♀, el día 14 el grupo ACH 20mM ♀ contra el grupo Progesterona+Estradiol ♀ y el grupo ACH 20mM ♀ + Progesterona+Estradiol y el día 21 el grupo ACH 20mM ♀ contra el grupo Vehículo ♀, grupo Progesterona+Estradiol ♀ y el grupo ACH 20mM ♀ + Progesterona+Estradiol (gráfica 6).



Gráfica 6. Tiempo de inmovilidad. De acuerdo a la interacción de factores se encontraron diferencias significativas en esta variable. [F(12,90)= 1.889; p<0.046], *p< 0.05 vs todos los grupos en los días 14 y 21. ANOVA de dos vías, *post hoc* Duncan.

CONCLUSIÓN

Existe dimorfismo sexual en el efecto del tratamiento crónico con acetanohidrina. Las hembras son más resistentes durante las pruebas de locomoción. La administración de estradiol y progesterona produce protección sobre la coordinación motora ante la administración de acetanohidrina en la rata hembra Wistar.

BIBLIOGRAFÍA

1. Azcoitia I, Arévalo A, García LM. (2010). Acciones neuroprotectoras de las hormonas ováricas. Facultad de Biología, Universidad Complutense de Madrid; Instituto Cajal, CSIC, Madrid, p.88-90.
2. Boivin M, Okitundu D, Marie-Therese, Mumba D, (2013). Neuropsychological Effects of Konzo: A neuromotor disease associated with poorly processed cassava. *Pediatrics*, 131, 1213-39.
3. Cereda P, (2003). Procesamiento da Yuca como mecanismo de detoxificação: Cultura de tuberosas amiláceas latino-americanas, *Cdrom, Fundação Cargill*, 3(3):47-80.
4. Cook JH, Sharkawy MA, (1988). Physiological characteristics for cassava selection. *Exp Agr*; 24:443-8.
5. Comisión Veracruzana de Comercialización Agropecuaria: Monografía de la Yuca. Gobierno del Estado de Veracruz, 2010.
6. da Silva J, de Paula C, Moreira T , Pérez O, (2008). Derivados y componentes tóxicos de la yuca en Brasil. *Temas Agrarios*, 2, 5-16.
7. Díaz-Véliz G, Mora S, (2012). The use of animal models in the study of the anxiolytic and antidepressant properties of medicinal plants. *Rev Farmacol. Chile*; 5 (2): 21-27.

8. Fondo Internacional de Desarrollo Agrícola, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO/ FIDA), (2008). La economía mundial de la yuca: hechos, tendencia y perspectivas. Roma.
9. García HS, (2002). Efectos de la Dopamina en el condicionamiento de preferencia de lugar inducido por la cópula regulada en la rata hembra. Tesis de Maestría en Neurobiología, INBUNAM, México.
10. García-Ovejero, Azcoitia I, DonCarlos L, Gracia LM, (2005). Glia-neuron crosstalk in the neuroprotective mechanisms of sex steroid hormones. *Brain Research*: 48; 273-86.
11. Hernández GM, (2002). Motivación animal y humana. México. El manual moderno, p. 134-141.
12. Laurent M, Saborío D, (2001). Tecnología post cosecha de yuca fresca parafinada (*Manihot esculenta* Crantz) para exportación en Costa Rica. En Centro de Investigaciones Agronómicas, Costa Rica: Imprenta nacional.
13. Llorens J, (2004). Enfermedades neurológicas asociadas al consumo de variedades de mandioca con alto contenido en gluconitrilos. *Endocrinol Nutr*; 51(7): 418-25.
14. Moser VC, (2011). Functional Assays for Neurotoxicity Testing. *Toxicol Pathol*; 39 (1) 36-45.
15. Ospina B, Ceballos H, (2002). La Yuca en el tercer milenio: Sistemas Modernos de Producción, Procesamiento, Utilización y Comercialización. CIAT, p. 17-49.
16. Rivadeneyra-Domínguez E, Rodríguez-Landa JF, Salas MD, (2012). ¿Neuropatía atáxica tropical y Konzo asociadas al consumo excesivo de yuca? *Arch Neurocienc (Mex)*; 17 (1): 45-48.
17. Rosas JC, (2015). Evaluación conductual y bioquímica (química sanguínea y pruebas de funcionamiento hepático) de la administración intraperitoneal de acetona-hidrina en la rata macho Wistar. Tesis de licenciatura, Universidad Veracruzana.
18. Rosling H, (1992). Cassava toxicity and food security. A review of health effects of cyanide exposure from cassava and of ways to prevent these effects. Reporte de la UNICEF/African Programa de seguridad alimentaria en el hogar. 2ª Ed. Sudáfrica. P. 40.
19. Saavedra M, Rivadeneyra-Domínguez E, Rodríguez-Landa JF, (2011). Alteraciones inducidas por la microinyección intrahipocámpal de metilazoximetanol en ratas macho forzadas a nadar. *Arch Neurocienc* 16 (4); 186-92.

ANÁLISIS DE LA PRESENCIA DE COLIFORMES TOTALES EN EL RIO CANTARRANAS, ATLIXCO

María Del Carmen Tellez-Medina, Dalia MOLINA-ROMERO, Lucero M. CUAUTLE-GARCÍA

Estudiante, Facultad de Ciencias Biológicas Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
Lab. De Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
Área de Ecología y Recursos Bióticos, Facultad de Ciencias Biológicas Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

RESUMEN

En las localidades de San Baltasar Atlimeyaya y San Pedro Atlixco ubicadas en las faldas del Volcán Popocatepetl, en Atlixco Puebla, converge uno de los afluentes riparios llamado Cantarranas. A través de los años, los cambios de uso de suelo en la región por actividades agrícolas, el incremento de los asentamientos urbanos, han provocado un mayor deterioro y demanda de los recursos naturales, y de servicios importantes como el uso del agua potable. En algunas comunidades de San Pedro Atlixco, el servicio del agua potable no es suficiente y por lo tanto las personas hacen uso del agua de río para solventar sus necesidades básicas y agropecuarias. Esto representa un riesgo hacia la salud de la población, por el contacto directo o indirecto de desechos y sustancias dañinas. El objetivo de este estudio fue monitorear los indicadores generales de contaminación microbiológica del Río Cantarranas, específicamente identificar organismos coliformes totales a lo largo del cauce. Se tomaron siete muestras de agua de diferentes partes del río para cubrir la extensión de la localidad, posteriormente fueron analizadas con el método del Número Más Probable (NMP) para determinar las poblaciones de coliformes totales. Los resultados obtenidos nos sugieren que cuatro muestras están dentro de los límites permisibles por la NOM-127-SSA1-1994 de la presencia de coliformes totales, considerando esta agua como potable, mientras que tres muestras no cumplen con los límites permisibles para considerar estas muestras como agua potable. Referencias: NORMA OFICIAL MEXICANA NOM127-SSA1-1994 y NMX MX-AA-42-1987.

INTRODUCCIÓN

Las zonas riparias se encuentran entre los sistemas ecológicos más complejos de la biosfera y cumplen diversas funciones, una de ellas es mantener la vitalidad del paisaje de la cuenca hidrográfica, debido a que tienen influencia sobre la organización y diversidad de ecosistemas tanto acuáticos como terrestres (Robert et al. 2000), además de ser las últimas líneas de defensa para la protección de calidad del agua y de ecosistemas acuáticos.

Estas zonas no tienen dimensiones absolutas (Robins y Cain, 2002), por lo cual es importante tener en cuenta qué tipo de funciones desempeñan dentro del paisaje de la cuenca hidrográfica.

El aporte de las zonas riparias a la calidad del agua y su impacto dentro de los ecosistemas acuáticos está en los macroinvertebrados bentónicos que se han utilizado como indicadores biológicos por ser resistentes o vulnerables a la contaminación del agua, se caracterizan por su alta diversidad (Chará 2003). Las funciones que estos cumplen son indispensables para la conservación de los ecosistemas acuáticos, ya que juegan un importante papel como descomponedores de la materia orgánica dentro de los cauces y forman parte de la cadena trófica, sirviendo de alimento a peces, crustáceos, anfibios, insectos etc. (Chará 2003).

Además se ha estudiado que en ocasiones las zonas riparias afectan positivamente la estabilidad del suelo influenciando en el incremento de la fertilidad y productividad, en ocasiones funge como amortiguador de los efectos de ganadería, agricultura y actividades antropogénicas, (Robins y Cain 2002).

En la actualidad la sobreexplotación de las zonas riparias además de tener como consecuencia la pérdida de la biodiversidad, influye en la degradación de las cuencas hidrográficas y la reducción de la calidad del agua, lo cual conlleva a problemas sociales, económicos y de salud (Lowrance et al. 2001) debido a que estas zonas se volvieron un foco de atención para las comunidades cercanas debido a que sus suelos fértiles proveen el lugar perfecto para llevar a cabo actividades de agricultura, ganadería etc. Aunado a esto, el crecimiento de la población, el problema de la escasez y de la demanda de agua ha causado fuertes presiones sobre los recursos hídricos arrastrando un gran riesgo para la salud, dado que no existe métodos adecuados de evacuación de aguas negras, higiene personal eficiente, y falta de agua potable; además la seguridad alimentaria se ve amenazada por la falta de agua para el riego (Blinn y Kilgore 2001)

En las zonas rurales los principales problemas de disponibilidad del agua son el desabasto y su falta de potabilización. En numerosas ocasiones el agua que llega a las viviendas de muchas comunidades rurales proviene de manantiales, ríos, arroyos, ojos de agua u otro tipo de fuentes naturales superficiales expuestas a la contaminación debido a la exposición y arrastre de partículas orgánicas e inorgánicas. (Sánchez-Pérez et. al 2000). En los diferentes tipos de agua, pueden encontrarse diversas bacterias, de las cuales algunas son nativas y por lo tanto pueden ser benéficas, de éstas depende en gran medida el proceso de autopurificación de los cuerpos de agua y, otras que tienen su origen en las excretas de humanos y animales de sangre caliente (animales domésticos, silvestres y aves) que contaminan el agua (CONAGUA, 1991)

Una amplia variedad de microorganismos pueden estar presentes en el agua, incluyendo bacterias, protozoos o virus, muchos de los cuales, son patógenos para el ser humano (Turco, 1994; Picone et al., 2003), por lo cual el agua puede convertirse en un vehículo para la adquisición de diversas enfermedades para el ser humano. (Gutiérrez- Ávila, 1989) principalmente, cuando se utiliza como medio de eliminación de excretas y otros desechos orgánicos (Isacc- Márquez et. al 1994). Es por esto, que durante más de medio siglo se ha empleado el grupo coliforme como un indicador del grado de contaminación y por tanto de la calidad sanitaria del agua, fundamentándose en el hecho de que al encontrarse presentes en el intestino y las heces de los animales de sangre caliente en mayor número que las bacterias patógenas, son incapaces de multiplicarse en aguas limpias (Parrilla, 1989).

Los coliformes son una familia de bacterias que se encuentran en las plantas, el suelo y los animales e incluso en los humanos, su presencia indica que el agua puede estar contaminada con aguas negras o desechos en descomposición (Munn, 2004) además de ser relativamente fáciles de identificar, ya que se desarrollan en colonias de tamaño visible (Turco, 1994; Picone et al., 2003). Este grupo se conforma por bacilos gram negativos, aerobios y anaerobios facultativos, no esporulados, está compuesto por 4 géneros principalmente: *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter* y *Klebsiella*. Los coliformes se caracterizan por fermentar la lactosa con producción de ácido y gas dentro de las 48 horas de incubación a 35° C (Fernández-Escartín, 1981) y precisamente la capacidad de producir gas en estas condiciones es el criterio que permite diferenciar el componente fecal del grupo coliforme (Isacc- Márquez et. al 1994).

Dentro de los coliformes totales se pueden distinguir dos tipos: los coliformes no fecales, que serían el grupo de coliformes que son residentes naturales en el agua; y los coliformes fecales, que provienen del tracto intestinal de animales de sangre caliente, los que serían los mejores indicadores de riesgo de afecciones humanas (Hunter et al., 2000). La presencia de este tipo de bacterias indica un riesgo potencial para la salud pública (Madigan et al., 2004).

TEORÍA

Numerosas enfermedades importantes se asocian con la contaminación del agua, como las enfermedades gastrointestinales que son la principal causa de muerte infantil en lugares donde hay altos niveles de pobreza y desnutrición (CONAGUA, 1991). Algunos de estos microorganismos como *Shigella*, *Salmonella* y *Vibrio* sp., pueden llegar a ser fuentes potenciales de infecciones severas en forma directa, sobre todo cuando el agua es utilizada para fines recreacionales, o indirectamente cuando están presentes en otros organismos que son consumidos por el hombre, como son los peces, crustáceos y moluscos (Becerra- Tapia, 1995).

Por tal motivo el objetivo de este estudio fue: Monitorear los indicadores generales de contaminación microbiológica del Río Cantarranas, específicamente identificar organismos coliformes totales a lo largo del cauce, ya que en el caso de la Granja piscícola Xoulín ubicada en San Baltazar Atlimeyaya, se reproduce, cría, cultiva y comercializa la especie acuícola conocida como “trucha arcoiris” (*Oncorhynchus mykiss*) utilizando en sus estanques agua de este Río. Por otro lado, después de pasar por los estanques de la granja piscícola, el cauce del Río continua por la comunidad de San Pedro Atlixco sin haber tenido una tratamiento previo, lo cual podría presentar un riesgo para la salud de las personas que actualmente hacen uso del agua para sus actividades cotidianas e incluso para los visitantes que acuden a la zona turística (Cascada de San Pedro Atlixco) y consume trucha arcoiris.

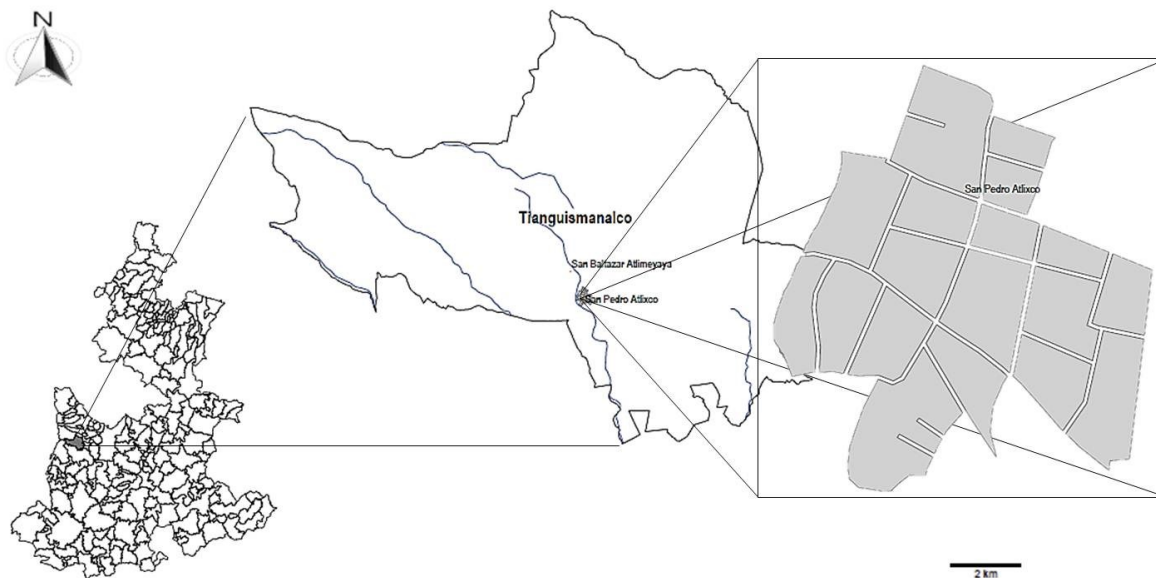
PARTE EXPERIMENTAL

ÁREA DE ESTUDIO

El municipio de Tianguismanalco se localiza en la parte centro oeste del estado de Puebla (Mapa 1), colinda al Norte con el municipio de San Nicolás de Los Ranchos, al Noreste con el municipio de Nealtican, al Sur con el municipio de Atlixco, al Sureste con el municipio de Santa Isabel Cholula y al Oeste con el municipio de Tochimilco. Pertenece a una de las cuencas más importantes del estado, la cuenca del río Atoyac. Además de que numerosas corrientes intermitentes provenientes de las estribaciones de la sierra nevada recorren de noroeste a sureste la porción occidental formando gran cantidad de barrancas como la de Xaltecuco, Quimichul, etc. (Enciclopedia de los municipios de México, 2005)

La comunidad de San Pedro Atlixco es una de las áreas más cercanas al volcán Popocatepetl donde el clima predominante es templado subhúmedo con lluvias en verano, por lo tanto tiene un balance hídrico favorable, además el valle es regado por numerosas corrientes que provienen de las estribaciones del Iztaccihuatl, uno de los pocos de carácter permanente y que cruza por la mitad de este. Otras corrientes importantes son el Cuescomate, el río Molino y el río Palomas y el río Cantarranas está ubicado en el municipio de Tianguismanalaco y atraviesa por la comunidad de San Baltasar Atlimeyaya y San Pedro Atlixco (Enciclopedia de los municipios de México, 2005).

Las numerosas corrientes temporales, originadas por los deshielos del volcán, forman una gran cantidad de barrancas al Noreste. Los recursos hídricos de la región se usan para la agricultura y para fines recreativos y turísticos (INEGI, 2001)



Mapa 1. Comunidad de San Pedro Atlixco, Tlanguismanalco, Puebla

MUESTREO Y ANÁLISIS DE LABORATORIO.

Para realizar el Muestreo se ubicaron 7 estaciones en los afluentes secundarios del río Cantarranas. En las 7 estaciones seleccionadas, se recolectaron muestras de agua en frascos de vidrio de aproximadamente 500 ml de capacidad previamente esterilizados, los cuales se llenaron a 2/3 partes de su capacidad con sumo cuidado, evitando que el cuello del frasco estuviera en contacto con los dedos o cualquier otro material contaminante. Una vez colectadas las muestras de agua, se trasladaron de inmediato al laboratorio para realizar el análisis y evitar proliferación o muerte de las bacterias.

El proceso de análisis microbiológico se realizó en el Laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. El método utilizado para la determinación de coliformes totales fue el de número más probable (NMP). La toma, preservación y análisis de las muestras se realizaron (5 réplicas por cada muestra) de acuerdo a los métodos de la NORMA OFICIAL MEXICANA NMX MX-AA-42-1987

RESULTADOS

Los resultados de la evaluación de presencia de coliformes fecales en el agua se reportan en la figura 1, en donde se observó que la muestra 4 proveniente de la cascada, que está en contacto con el drenaje es la muestra que presenta una mayor concentración de coliformes (1000 UFC/ 100 ml), rebasando los límites permisibles (2 UFC/ 100 ml) de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, además, se observó crecimiento de un hongo en el proceso de incubación. Por otra parte, las muestras 5 y 7 presentaron una población similar de 93 UFC/ 100 ml, ubicadas en la cascada y en el río, respectivamente. Posiblemente la población alta de coliformes está relacionada con los desechos domésticos vertidos en esta zona, además de los generados por las actividades relacionadas con el turismo que se lleva a cabo.

Los resultados de poblaciones de coliformes totales obtenidos de cuatro muestras están dentro de los límites permisibles por la NOM-127-SSA1-1994 para considerar esta agua como potable, teniendo la muestra 1 una población de: 1 UFC/100 ml, la muestra 3: 3 UFC/100 ml y la muestra 6: 2 UFC/100 ml, mientras que tres muestras no cumplen con los límites permisibles, las cuales fueron tomadas de segmentos de río que están en contacto directo con aguas residuales, donde además de encontrar con una cantidad alta de presencia de coliformes se encontró la presencia de

un hongo. La variación de estos valores se puede atribuir a las aguas de desecho doméstico que desemboca en el río, además de actividades turísticas, la incorporación de químicos provenientes de jabones, detergentes, e incluso desechos provenientes de la comunidad vecina que tiene como actividad principal la crianza de trucha arcoíris, entre otras.

En general, se notó una considerable variación de la presencia de coliformes en diferentes puntos de río, lo cual tiene gran importancia para la evaluación de la calidad sanitaria del Río Cantarranas, ya que los valores reportados sugieren evidencia de contaminación antropogénica.

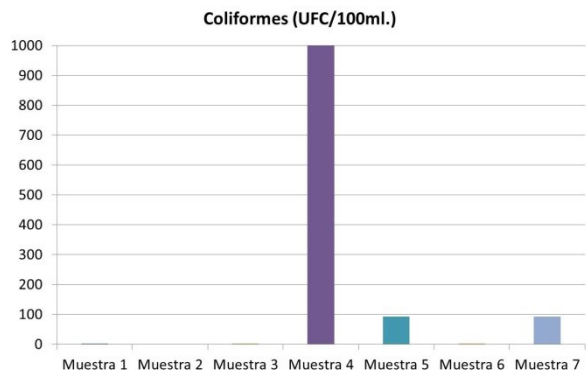


Fig. 1 La muestra 1 (1 UFC/100ml.), la muestra 3 (3 UFC/100ml.) y la muestra 6 (2 UFC/100ml.) representan una baja cantidad de coliformes y entran dentro de los límites permisibles de agua potable, al igual que la muestra 5 (93 UFC/100ml.) y 7 (93 UFC/100ml.), aunque estas presentaron una mayor cantidad de coliformes siguen dentro de los límites. En la muestra 2 no se detectó presencia de coliformes. La muestra 4 (1000 UFC/100ml.) fue la que presentó la mayor cantidad de coliformes y no está dentro de los límites permisibles de agua potable.

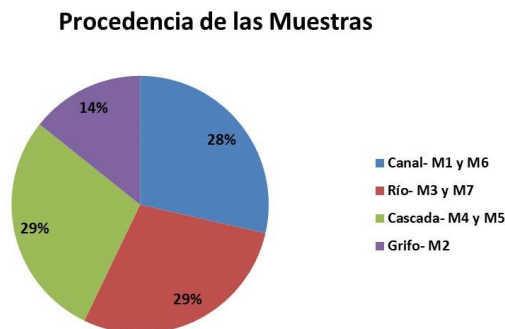


Fig. 2 Porcentaje de la procedencia de las muestras

Fig 2. **El canal:** afluentes del río que se ubican dentro de la comunidad. **Río:** cuerpo de agua con caudal y flujo constante. **Cascada:** caída de agua con curso fluvial. **Grifo:** dispositivo que proporciona agua para consumo humano.

CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos se puede concluir que el Río Cantarranas a pesar de estar en contacto con sustancias contaminantes no se considera que este altamente contaminado, sin embargo, hay que tomar en cuenta que en algunos (muestra 4) segmentos del río al estar en contacto con aguas residuales pueden presentar un riesgo para la salud de la comunidad si se sigue utilizando para actividades como la agricultura.

La conservación de este importante cuerpo de agua requiere implementar la infraestructura para el tratamiento sanitario de aguas residuales de la comunidad que son vertidos al Río Cantarranas. Es imprescindible controlar las descargas clandestinas principalmente de la zona turística (Cascada de San Pedro Atlitxco) y reglamentar el cumplimiento de las normas oficiales mexicanas. Adicionalmente, es necesario un programa de monitoreo adecuado para dar seguimiento y controlar los efectos de las acciones realizadas sobre la calidad del agua.

BIBLIOGRAFÍA

1. Arcos, I. (2005) Efecto del ancho los ecosistemas riparios en la conservación de la calidad del agua y la biodiversidad en la microcuenca del río Sesesmiles, Copán, Honduras. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba, Costa Rica.
2. Becerra-Tapia, N. & Botello, A. (1995) Bacterias coliformes totales, fecales y patógenas en el sistema lagunar Chantuto-Panzacola, Chiapas, México. Hidrobiológica, 1995, 5 (1-2): 87-94.
3. Enciclopedia de los Municipios de México (2005) Tianguismanalco. <http://www.e-local.gob.mx/>

4. Isaac-Márquez, AP, Lezama- Dávila, CM, Ku- Pech, PP, Tamay- Segovia P (1994) Calidad sanitaria de los suministros de agua para el consumo humano en Campeche. *Salud Pública de México* 1994; 36: 655-661.
5. Luna-Fernández, V. (2011) Análisis multitemporal de la dinámica en el cambio de uso de suelo rural-urbano en la región de Atlixco, Puebla. *Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas*. Puebla, Puebla.
6. Norma Oficial Mexicana NMX-AA-42-1987 (1980) Calidad Del Agua-Determinacion Del Numero Más Probable (NMP) De Coliformes Totales, Coliformes Fecales (Termotolerantes) Y Escherichia coli presuntiva. México, D.F.
7. Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994 (2000). Salud Ambiental, Agua Para Uso Y Consumo Humanolimites Permisibles De Calidad Y Tratamientos A Que Debe Someterse El Agua Para Su Potabilización. México, D.F.
8. Ramos-Ortega, L., Vidal, L., Vildady, S., Saavedra-Díaz, L. (2008) Análisis De La Contaminación Microbiológica (Coliformes Totales Y Fecales) En La Bahía De Santa Marta, Caribe Colombiano. *Acta Biológica Colombiana*, Vol. 13 No. 3, 2008 87 – 98.
9. Rodríguez, S., Gauna, L., Martínez, G., Acevedo, H., Romero, C. (2012) Relación del nitrato sobre la contaminación bacteriana del agua. *Terra Latinoamericana*, vol. 30, núm. 2, abril-junio, 2012, pp. 111-119. *Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C.* Chapingo, México.
10. Sánchez-Pérez HJ, Vargas-Morales MG, Méndez-Sánchez JD. (2000) Calidad bacteriológica del agua para consumo humano en zonas de alta marginación de Chiapas. *Salud Pública de México* 2000; 42:397-406.
11. Sandoval, A., Carlos, G. (1991) Determinación De Coliformes Fecales. *Comisión Nacional Del Agua. Manual No. 7 ,1 A Edición*, 1991

RESPUESTA A ANTIBIÓTICOS DE AMPLIO ESPECTRO POR BACTERIAS HETERÓTROFAS AISLADAS DEL CANAL EL NARANJO (VALLE DE CHALCO, ESTADO DE MÉXICO)

Quezada-Cabrera Erick Uriel, Núñez-Cardona María Teresa, García-Rivera David Misael, Aguilar-Gallegos Ariadna y Guadalupe Cruz-Pauseno

Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco.

Laboratorio de Ecología Microbiana, Licenciatura en Medicina y Medicina Veterinaria
mtnunez@correo.xoc.uam.mx

RESUMEN

En México la contaminación de los sistemas acuáticos, pone en peligro a plantas y animales que los habitan, ya que continuamente son impactados negativamente por aguas residuales convirtiéndose en ambientes adecuados para la proliferación de microorganismos patógenos. El objetivo de la presente investigación fue conocer la respuesta a antibióticos de amplio espectro por bacterias heterótrofas acuáticas, aisladas del canal el Naranjo ubicado en el Valle de Chalco (Estado de México). Las muestras de agua se colectaron del nivel superficial y de fondo, se hicieron diluciones seriadas en solución isotónica y 0.1 ml se utilizaron para inocular cajas de Petri conteniendo agar nutritivo. Los cultivos fueron incubados a 28°C, durante 24 horas. De las colonias resultantes se hicieron aislamientos al azar, y se obtuvieron cultivos puros, lo cual se determinó con observaciones al microscopio óptico, previa tinción de Gram; se observó la capacidad de los cultivos puros para producir enzimas extracelulares y su respuesta a 12 antibióticos de amplio espectro (específicos para bacterias Gram negativas). Se obtuvieron 19 cultivos, el 53% presentó forma bacilar y el 47 de cocos, en su mayoría Gram negativos (95%). De 15 cultivos, 13 produjeron amilasa, seis gelatinasa y solo uno lipasa; al menos uno fue resistente a ceftriaxona y cloranfenicol; dos a trimetropim sulfatometoxazol, cuatro a carbenicilina, cinco a ampicilina, seis a nitrofurantoina, siete a cefalotina; 15 cultivos fueron sensibles o tuvieron una respuesta intermedia ante amikacina, cefotaxima, gentamicina, pefloxacina, netilmicina. Aunque la resistencia a antibióticos fue en general baja, seis cultivos fueron resistentes a entre tres y seis de estos fármacos. La presencia de cocos Gram negativos en el sistema indica la participación de animales en el deterioro de este ambiente.

INTRODUCCIÓN

El agua es esencial para la vida y los humanos la utilizan también para actividades recreativas y productivas; para su consumo y uso agrícola, es necesario considerar su calidad fisicoquímica y microbiológica. En México se aprovechan las aguas residuales ya sea para potabilizarlas, para riego y algunas que fluyen a través de canales son el ambiente adecuado para la proliferación de microorganismos (CONAGUA, 2008). Actualmente, áreas aledañas al lago de Chalco, como es el canal "El Naranjo", se han convertido en un depósito de aguas residuales y un ambiente idóneo para el crecimiento de microorganismos que pueden comprometer la salud no solo de los habitantes del municipio sino también para sus visitantes.

En sistemas dulceacuícolas de Xochimilco y Chalco se ha reportado la presencia de Enterobacterias de los géneros *Erichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Klebsiella*, además de Streptococos como *Enterococcus faecales*, *Streptococcus avium*, *S. equinus* y *S. gallinarum*, y otros patógenos como los pertenecientes a *Pseudomonas* y *Aeromonas* (Zambrano, et al. 2003).

El agua del canal El Naranjo son utilizadas para el riego de diferentes cultivos de plantas para consumo humano, aun cuando están contaminadas por residuos de origen diferente y se desconoce el tipo de bacterias que se desarrollan en este. El objetivo de la presente investigación fue determinar la respuesta a antibióticos de amplio espectro por bacterias heterótrofas, aisladas a partir de muestras de agua colectadas en el canal El Naranjo, ubicado en el Valle de Chalco (Estado de México).

TEORIA

Es muy amplio el estudio que se tiene, acerca de la gran importancia en el uso de los medicamentos para contrarrestar enfermedades, en humanos y animales y de la presencia de fármacos como los antibióticos en los ambientes acuáticos y sus efectos en estos. Entre otras cosas, la presencia de antibióticos en estos sistemas al vertimiento de aguas residuales de origen doméstico, por actividades agropecuarias y las relacionadas con área de la salud exponiendo y generando bacterias multirresistentes gracias a su capacidad de sintetizar enzimas que inactivan a los antibióticos, mutaciones de su material genético y la presencia de fármacos. Esto ha llevado a la necesidad de describir y producir fórmulas nuevas de antibióticos (Correa-Basurto *et al.* 2007).

En los ambientes acuáticos, predominan los bacilos Gram negativos que participan en la degradación de los materiales orgánicos, participan además en los ciclos bioquímicos que aquí se desarrollan, sin embargo, es posible observar la presencia de microorganismos habituales de la microbiota del hombre y que tienen historiales clínicos como son *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y *Stenotrophomonas maltophilia* (Vila y Marco. 2010). Los cocos como lo son enterococos un grupo que son de gran similitud a los estreptococos, que forman parte de la microbiota normal del tracto intestinal del humano y de otros animales, por ello son conocidos como estreptococos fecales y sobreviven bastante tiempo en aguas contaminadas, por lo que indicadores de contaminación fecal (Pérez *et al.* 2011).

PARTE EXPERIMENTAL

Con botellas estériles, fueron colectadas muestras de agua tanto de la superficie como del fondo, del canal el Naranjo ubicado en el Valle de Chalco, Estado de México, (febrero de 2013). Las muestras fueron transportadas en hielo para su procesamiento en la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco

Una vez en el laboratorio, con las muestras se hicieron diluciones seriadas en solución isotónica (0.08% NaCl) hasta 10^3 y se inocularon en cajas Petri conteniendo Agar Nutritivo, TCBS (específico para el género *Vibrio*) y MacConkey (para Enterobacterias); después de 24 horas de incubación se cuantificaron las colonias, se hicieron aislamientos coloniales. Posteriormente se aplicó la técnica de siembra y resiembra para obtener cultivos puros, para ello se aplicó la tinción de Gram, se hicieron observaciones al microscopio óptico para hacer registros de sus características morfológicas como la forma y arreglo celulares además de su respuesta a dicha tinción.

Los cultivos puros fueron caracterizados mediante pruebas bioquímicas convencionales como la utilización de sustratos orgánicos como fuentes de carbono y energía que incluyó a la glucosa, lactosa, sacarosa, manosa, fructuosa, maltosa, además de citrato (Citrato de Simmons) SIM (producción de sulfhídrico, Indol y movilidad), su capacidad para reducir a los nitratos a nitritos y se observó su capacidad de producir enzimas extracelulares (ADNasa, lipasa, ureasa, gelatinasa, amilasa) y su respuesta a 12 antibióticos de amplio espectro (ampicilina, cefalotina, cefotaxima, ceftriaxona, cloranfenicol, gentamicina, netilmicina, nitrofurantoina, pefloxacina, trimetropim sulfametoxazol, amikacina, carbenicilina), que se realizó en agar Mueller Hinton las lecturas se hicieron considerando lo descrito por Correa-Basurto *et al.* (2007).

RESULTADOS

En la muestra de agua proveniente de la superficie, las unidades formadas de colonias (UFC), en agar nutritivo fue de 2.1×10^3 y en el fondo de 9.5×10^2 ; en agar MacConkey fueron de 2.5×10^3 en superficie y 1.2×10^2 en el fondo, en tanto que en TCBS hubo alguna UFC.

Se obtuvieron 19 cultivos puros (de agar nutritivo), el 53% son bacilos y el 47% cocos; la mayoría fueron Gram negativos (95%) y con arreglos de 1-2 (cantidad), 1-3 (cantidad) y 1-4 (cantidad).

De los sustratos ensayados, para determinar su capacidad catabólica, se observó que ninguno de los cultivos fue capaz de utilizar a la glucosa lo cual indica que ninguno de los cultivos pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Tampoco utilizaron a la fructuosa y un bajo número de los cultivos metabolizaron a la maltosa, manosa, sacarosa y lactosa como se muestra en la figura 1. Esta baja actividad catabólica en los cultivos indica que estos son oligotróficos lo que impide la degradación de materiales orgánicos en el sistema.

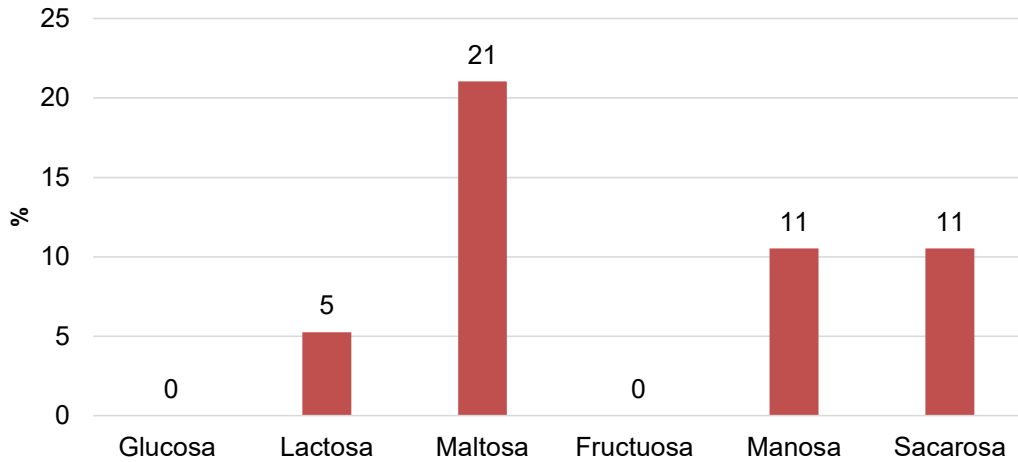


Figura 1.- Número de cultivos (%) capaces de utilizar como fuente de carbono y energía a los sustratos ensayados.

Como puede observarse en la figura 2, las bacterias heterótrofas aisladas del canal el Naranja produjeron principalmente amilasa (facilita la degradación de material de origen vegetal), ninguno fue capaz de producir ureasa y ADNasa.

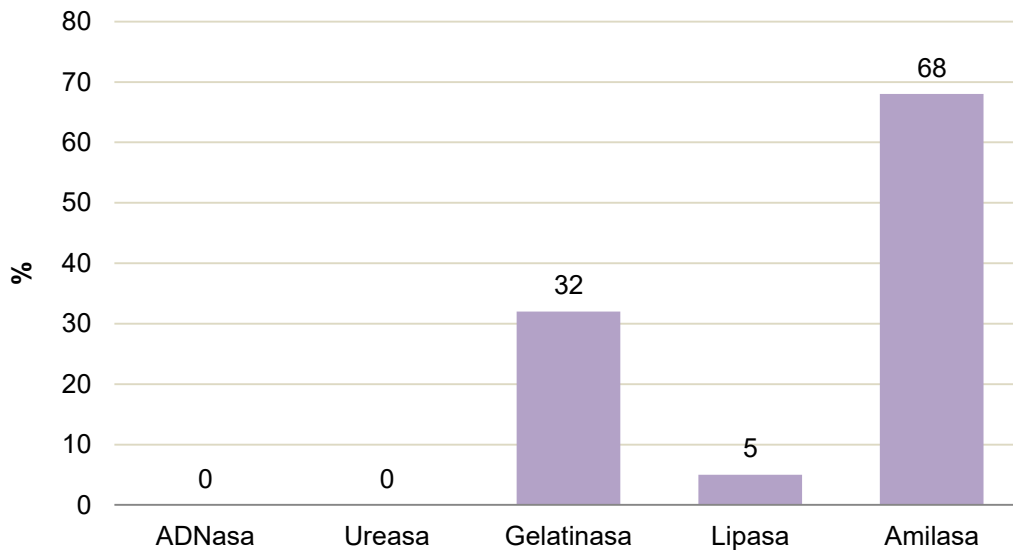


Figura 2.- Número (%) de cultivos bacterianos puros productores de enzimas extracelulares.

En la figura 3 se presenta la respuesta de los cultivos a los antibióticos ensayados. Se muestra sensibilidad a pefloxacina (74%), netilmicina (63%), gentamicina (58%); el (53%) lo fue ante

amikacina, cefotaxima, cloranfenicol en las y trimetropim-sulfametoxazol y la mayor resistencia fue ante cefalotina y nitrofurantoina (37 y 32%, respectivamente).

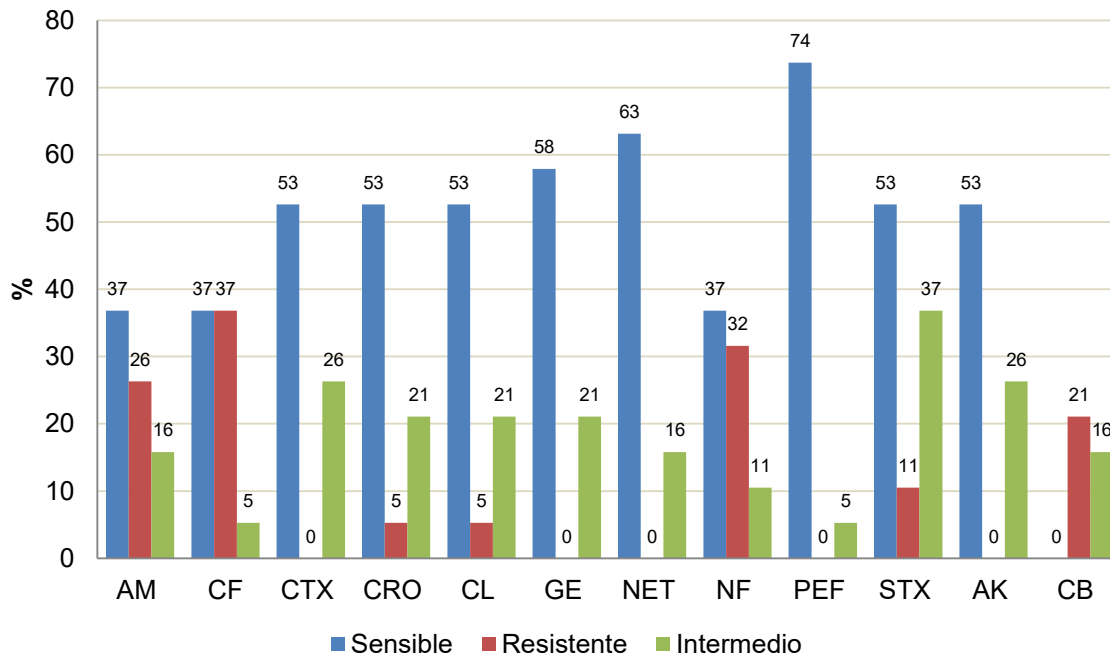


Figura 3.- Respuesta de los cultivos bacterianos a los antibióticos ensayados (AM Ampicilina, CF CEF Cefalotina, CTX Cefotaxima, CRO Ceftriaxona, CL Cloranfenicol, GE Gentamicina, NET Netilmicina, NF Nitrofurantoina, PEF Pefloxacina, STX Trimetropim Sulfametoxazol, AK Amikacina, CB Carbenicilina).

La resistencia a los antibióticos es un factor de patogenicidad en las bacteria y de acuerdo con Castro-Escarpulli *et al.* (2002), la producción de enzimas extracelulares como la lipasa, gelatinasa y ADNasa, también lo son.

En la figura 4.- Se presenta un concentrado de la producción de enzimas extracelulares y la respuesta a los antibióticos por los cultivos bacterianos. Como puede observarse, la mayoría de los cultivos fueron sensibles a los antibióticos o con respuesta intermedia y la resistencia se presentó en un número bajo y sólo tres cultivos produjeron gelatinasa.

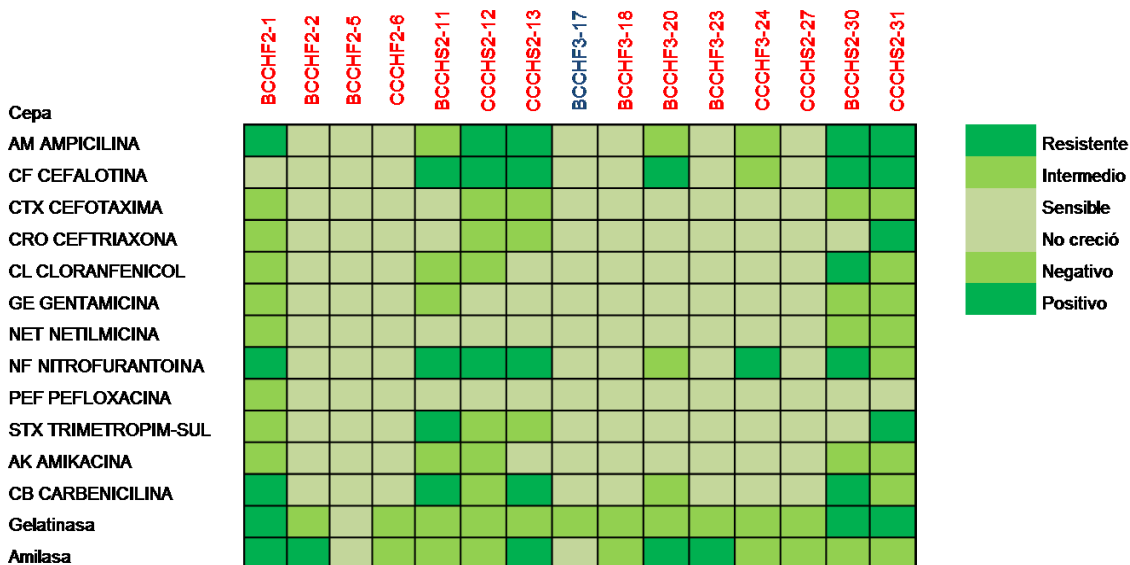


Figura 4. Respuesta de los cultivos bacterianos a los antibióticos ensayados y su capacidad para producir enzimas extracelulares, donde B= bacilos y C=cocos, gracias a la tinción de Gram se observan los rojos = negativos y azul = positivo.

CONCLUSIONES

La resistencia a antibióticos fue en general baja, sin embargo seis de los cultivos mostraron resistencia a entre tres y seis de estos fármacos, todos de amplio espectro. La presencia de cocos Gram negativos en el sistema indica la participación de animales en el deterioro de este ambiente.

BIBLIOGRAFÍA

1. G. Castro-Escarpulli, M. G. Aguilera-Arreolla, S.C. Giono, C.H. Hernández- Rodríguez, M.C. Rodríguez, L.F. Soler, G.O. Aparicio, M.J.S. Figueras, El género *Aeromonas* ¿Un patógeno importante en México?. *Microbiología Clínica*. 22(4): 2002, pp. 206-21.
2. CONAGUA, “Programa Nacional Hídrico 2007-2012”, México. SEMARNAT, 2008, 157p.
3. A. Correa-Basurto, M.T. Núñez-Cardona, B.S. Peña, Bacterias heterótrofas aisladas del Lago de los Reyes Aztecas (Tláhuac) y su resistencia a diferentes antibióticos. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*. 2007, 3 (1): 84-89.
4. E. T. Pérez, A. Z. Zamorano y de C. López, COCOS GRAMPOSITIVOS Y GRAMNEGATIVOS. En: *Microbiología de Ciencias de la Salud: Conceptos y aplicaciones*. ELSEVIER, 2011, 358p.
5. J. Vila y F. Marco, *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*. Servicio de microbiología. Centro de Diagnóstico Biomédico. Barcelona, España. 2010, 28(10):726–736.
6. G. L. Zambrano, L., Reynoso, V. H. y G. Herrera, Abundancia y estructura poblacional del axolotl (*Ambystoma mexicanum*) en los sistemas dulceacuícolas de Xochimilco y Chalco. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biología. Informe final SNIBCONABIO proyecto No. AS004. Ciudad de México, 2003, 35p.
7. G. Castro-Escarpulli, M. G. Aguilera-Arreolla, S.C. Giono, C.H. Hernández- Rodríguez, M.C. Rodríguez, L.F. Soler, G.O. Aparicio, M.J.S. Figueras, El género *Aeromonas* ¿Un patógeno importante en México?. *Microbiología Clínica*. 22(4): 2002, pp. 206-216

INTERACCIÓN DE DISA CON PROTEÍNAS INVOLUCRADAS EN REPARACIÓN Y/O REPLICACIÓN DE ADN Y SUS EFECTOS EN LA GERMINACIÓN/ECLOSIÓN DE ESPORAS DE *BACILLUS SUBTILIS*

Luz Idalia Valenzuela García, Víctor Manuel Ayala García y Mario Pedraza Reyes.

Departamento de Biología, Universidad de Guanajuato, Noria Alta s/n CP. 36050, Guanajuato, Gto. MÉXICO.

RESUMEN

Bajo condiciones que limitan su crecimiento, *B. subtilis*, una bacteria del suelo, induce la formación de estructuras celulares altamente diferenciadas denominadas esporas. Las esporas son capaces de persistir por tiempos indefinidos bajo condiciones extremas de desecación, calor, luz UV y agentes químicos¹. Las condiciones nutricionales óptimas propician la germinación/eclosión y el regreso al crecimiento de las esporas dormantes; el éxito de este proceso depende en gran medida de la integridad de su genoma. Este proceso es cuidadosamente inspeccionado por proteínas especializadas como DisA². Nuestro laboratorio investiga la manera en que este guardián celular coordina proteínas de reparación y factores de transcripción para eliminar distintas lesiones genéticas antes de que las esporas eclosionantes comiencen su división y reasuman su crecimiento. La elucidación de estos procesos permitirá desarrollar estrategias tendientes a bloquear la germinación de esporas patógenas de humanos como *B. anthracis* y *B. cereus*.

INTRODUCCION

Bacillus subtilis es una bacteria Gram-positiva, no patógena cuyo hábitat natural es el suelo y vegetación (1). Existe particular interés en el estudio de esta bacteria debido a su capacidad de formar esporas, las cuales son estructuras de resistencia que les permiten sobrevivir por largos periodos de tiempo (1,2). Las esporas formadas por los generos *Bacillus* and *Clostridium* pueden sobrevivir a tratamientos que fácilmente eliminan a otras bacterias, incluyendo altas temperaturas (más de 100°C), radiación ionizante, solventes químicos, detergentes y enzimas hidrolíticas (2).

Durante la dormancia, las esporas de *B. subtilis* acumulan lesiones inducidas por factores químicos y físicos, debido a su nula actividad metabólica, estas lesiones solamente pueden ser eliminadas durante su retorno al crecimiento vegetativo. Este proceso ocurre a través de un programa de desarrollo que puede dividirse en dos fases, i) germinación, y ii) eclosión (3). La primera fase da comienzo cuando germinantes específicos como azúcares o aminoácidos son detectados por receptores de la membrana interna de la espora (3). Varios eventos continúan a esta interacción receptor-germinante, incluyendo la liberación de ácido dipicolínico y cationes divalentes del interior de la espora, hidrólisis del cortex del peptidoglicano de la espora, y captación de agua a niveles comparables con los de células en crecimiento (3). La completa hidratación de la espora durante la germinación, activa el metabolismo aeróbico, la degradación de proteínas protectoras del ADN (α/β SASP) para proceder con eventos fundamentales como la reparación, transcripción y eventualmente la replicación (4).

Tanto el proceso de formación de las esporas como el regreso de éstas al crecimiento vegetativo son etapas altamente reguladas, que requieren asegurar la integridad de la información genética. Al inicio de la esporulación *B. subtilis* cuenta con Sda y DisA dos proteínas que sensan el ADN dañado y presumiblemente activan su reparación asegurando la integridad del cromosoma que se segrega hacia el compartimento que formara la espora (5,6). Recientemente nuestro grupo de trabajo describió que la proteína DisA también despliega un evento de inspección de daño al ADN durante el proceso de germinación eclosión. Dicho proceso responde al daño genético promovido por el estrés oxidativo (7). Estas evidencias, sugieren que el evento de control ejercido por DisA

detiene la replicación del ADN durante la eclosión de las esporas hasta que su genoma está libre de daño (7).

TEORÍA

Estudios recientes mostraron que DisA posee la capacidad de inspeccionar el cromosoma en busca de daño en la etapa de germinación-eclosión de las esporas de *B. subtilis* (7). Se concluyó que la presencia de lesiones oxidativas en el DNA detiene la replicación y retarda la eclosión y con ello el inicio del crecimiento vegetativo. Por lo que en este trabajo se pretende investigar, la capacidad de DisA de interactuar con las proteínas de reparación Mfd y UvrA así como el efecto de dichas interacciones en el mecanismo de inspección desplegado por esta proteína durante el retorno de las esporas de *B. subtilis* al crecimiento vegetativo.

PARTE EXPERIMENTAL

Cepas bacterianas

Cepas	Descripción de genotipo ^a	Fuente o referencias ^b
PS832	Wild type <i>trpC2</i> revertant of strain 168	Laboratory stock
PERM733	$\Delta disA::lacZ$ Er^r	(7)
PERM 938	$\Delta mfd::tc$ Tc^r	(8)
PERM 939	$\Delta mfd::tc \Delta yqjH::er$ Tc^r Er^r	(8)
PERM 940	$\Delta mfd::tc \Delta yqjW::er$ Tc^r Er^r	(8)
PERM 985	$\Delta uvrA::cm$ Cm^r	(8)
PERM1333	$\Delta mfd::tc \Delta disA::er$ Tc^r Er^r	PERM938 → PERM733
PERM1342	$\Delta uvrA::cm \Delta disA::er$ Cm^r Er^r	PERM985 → PERM733
PERM1460	$\Delta mfd::tc$ Tc^r	PERM938 → PS832
PERM1461	$\Delta uvrA::cm$ Cm^r	PERM938 → PS832

X→Y indica que la cepa “Y” fue transformada con ADN de la fuente “X”

Obtención de esporas y cinéticas de germinación y eclosión.

La obtención y purificación de esporas de *B. subtilis*, así como las cinéticas de germinación/eclosión se realizaron de acuerdo a los protocolos previamente descritos (9)

Análisis microscópico de las células

La morfología celular de las esporas durante la eclosión fue analizada por microscopia, tomando muestras de 1 mL de la cinética de germinación/ eclosión, 90 min después de inducida la germinación con L-Alanina. Las muestras se centrifugaron y resuspendieron en 0.2 mL de PBS y 5 μ L de EDTA 0.5 M. El análisis microscópico se realizó colocando 5 μ L de las muestras en un portaobjetos inmovilizadas con 10 μ L de poli-L- lisina, posteriormente fueron observadas y fotografiadas en campo claro con un microscopio Axiovision Scope A1 (Carl Zeiss; Göttingen, Alemania), con un aumento de 100x.

RESULTADOS

Durante la etapa de germinación-eclosión, la entrada de agua y la activación del metabolismo aerobio son potenciales fuentes de especies reactivas de oxígeno que al impactar al ADN generan sitios AP, rupturas de cadena y bases oxidadas como la 8-oxo-G, las cuales pueden ser procesadas por el sistema de reparación por escisión de bases (BER) (10,11). Sin embargo, estas lesiones pueden afectar también procesos como la transcripción y la replicación de DNA (12).

Anteriormente se demostró que *mfd* y *uvrA* se expresan en el compartimento de la preespora, estos genes codifican para factores críticos de la vía TCR-NER (8), por lo cual en este trabajo se investigó si la inactivación genética de estas funciones en una cepa deficiente en *disA* influye en la eclosión de las esporas. Se observó que a los 90 min después de iniciada la germinación (t90), la relación de la DO_{600nm} alcanzada en ese punto con respecto a la DO_{600nm} inicial fue menor para las dobles mutantes $\Delta uv r A$ *disA* (1.0) y $\Delta m f d$ *disA* (0.79) en comparación con la cepa WT (1.4) y las mutantes sencillas $\Delta m f d$ (1.4), $\Delta uv r A$ (1.6) y $\Delta d i s A$ (1.7) (Figura 1). Estos efectos se encuentran posiblemente asociados con alteraciones en el material genético de las dobles mutantes durante su retorno al crecimiento vegetativo; en particular, en el proceso de eclosión.

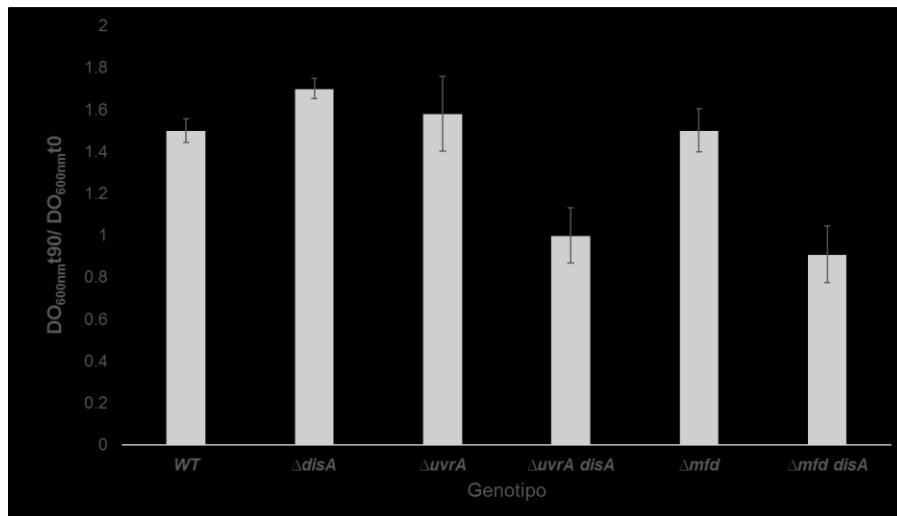


Figura 1. Relación de la DO_{600nm} en t90 respecto a la $DO_{inicial}$ de esporas de distintas cepas. Esporas de las cepas WT, $\Delta disA$, $\Delta uv r A$, $\Delta uv r A$ *disA*, $\Delta m f d$ y $\Delta m f d$ *disA* fueron sometidas a choque térmico y germinadas con la adición de 10 mM de L-Alanina. La germinación/eclosión fue monitoreada midiendo la DO_{600nm} de los cultivos. Las barras muestran el promedio de 3 repeticiones con lotes independientes de esporas y la barra de error representa la desviación estándar.

Los retardos en la eclosión de las mutantes $\Delta uv r A$ *disA* y $\Delta m f d$ *disA* fueron evidentes por la observación al microscopio de las esporas de las distintas cepas en t90 (Figura 2), donde se observa que las esporas de las cepas WT, $\Delta disA$, $\Delta uv r A$ y $\Delta m f d$, han llevado a cabo la eclosión en t90, es decir la célula vegetativa ha emergido de las cubiertas de la espora, sin embargo en las dobles mutantes $\Delta uv r A$ *disA* y $\Delta m f d$ *disA* es notoria la presencia de esporas que aún no han eclosionado, así como de algunas que han comenzado con el proceso (Figura 2). Estos resultados sugieren que la presencia de las proteínas Mfd, UvrA y DisA es necesaria para que la eclosión de las esporas proceda eficientemente.

Aun cuando las mutantes sencillas *uvrA* y *disA* no mostraron defectos en su retorno al crecimiento vegetativo, el análisis epistático mostró que la interrupción de ambos genes sí afectó dicho proceso, ya que las esporas con genotipo *uvrA disA* mostraron defectos en germinación/eclosión. Este efecto podría deberse a la acción de ambas proteínas en escanear y reclutar proteínas de reparación (7,13,14), disminuyendo la eficiencia cuando ambas están ausentes.

De forma similar, la sola ausencia de Mfd o de DisA no indujo un defecto en el proceso de germinación/eclosión de las esporas, pero la ausencia de ambos genes sí, sugiriendo la participación de Mfd y DisA en vías independientes para contrarrestar daño semejante durante el regreso al crecimiento vegetativo.

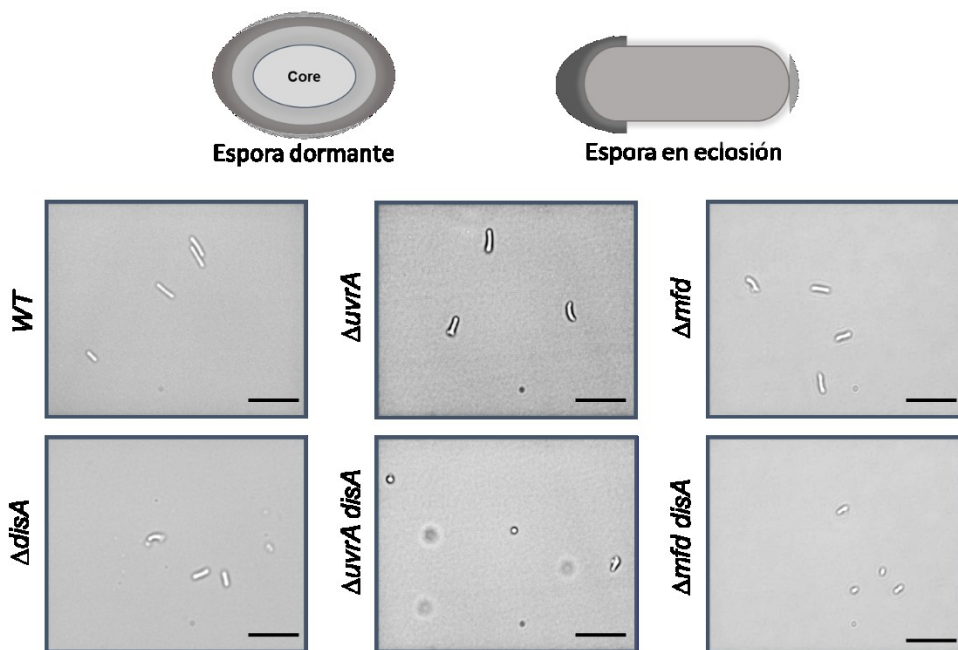


Figura 2. Análisis microscópico de esporas de distintas cepas durante la etapa t90 de la eclosión. Esporas dormantes WT, *disA*, *uvrA*, *uvrA disA*, *mfd* y *mfd disA* fueron activadas por choque térmico e inducidas a germinar en medio 2xSG con 10 mM L-alanina. 90 min después de la inducción de la germinación se tomaron muestras de los cultivos y se fotografiaron las células. Barra de escala= 5μm. Aumento= 100x

Los resultados del análisis de la eclosión mediante densidad óptica y microscopía apoyan la noción de una posible relación del sistema NER y TCR con la proteína DisA en la reparación del daño acumulado en el material genético de las esporas dormantes, así como el generado por el estrés oxidativo (7) durante el regreso al crecimiento vegetativo. .

La elucidación de las vías que alteran el regreso de las esporas de la dormancia metabólica, tiene implicaciones en salud y alimentación, ya que esto podría conducir al desarrollo de estrategias para bloquear la proliferación de esporas de géneros patógenos de *Bacillus* y *Clostridium*, cuyas características de esporulación y germinación son muy similares a las de *B. subtilis* (1,2, 3, 4).

CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo sugieren que:

- i) Lesiones en el DNA que son procesadas por el sistema NER, ya sea dependientes o no de Mfd son procesadas en coordinación con DisA.
- ii) La vía NER en coordinación con Mfd puede contrarrestar daño en el DNA promovido por ROS durante la germinación eclosión.

FINANCIAMIENTO

Trabajo apoyado por CONACYT (Subsidios: 205744 and 221231) y UGTO (Subsidios: 936-2016 and 1090-2016). LIVG y VMAG fueron apoyados con una beca doctoral de CONACyT.

BIBLIOGRAFÍA

1. M. Pedraza-Reyes, N. Ramírez-Ramírez, L.E. Vidales-Rodríguez, and E.A. Robleto. "Mechanisms of bacterial spore survival", in *Bacterial Spores: Current Research and Applications* (Norfolk, U.K, 2012), pp. 73-84.
2. W.L. Nicholson, N. Munakata, G. Horneck, H.J. Melosh, and P. Setlow, "Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments", *Microbiol. Mo. Biol. Rev.*, Vol. 64, 3, 2000, pp. 548-572.
3. P. Setlow, "Spore germination", *Curr. Opin. Microbiol.*, Vol.6,6, 2003, pp.550-556.
4. P. Setlow, "I will survive: DNA protection in bacterial spores", *Trends Microbiol.*, Vol 15,4, 2000, pp. 172-180.
5. W.F. Burkholder, I. Kurtser, and A.D. Grossman, "Replication initiation proteins regulate a developmental checkpoint in *Bacillus subtilis*", *Cell*, Vol.104,2, 2001, pp. 269-279.
6. J. W Veening, H. Murray, and J. Errington, "A mechanism for cell cycle regulation of sporulation initiation in *Bacillus subtilis*". *Genes Dev.*, Vol.23,16,2009, pp. 1959-1970.
7. S.S. Campos, J.R. Ibarra-Rodríguez, R.C. Barajas-Ornelas, F.H. Ramírez-Guadiana, A. Obregon-Herrera, P. Setlow, M. Pedraza-Reyes, "Interaction of apurinic/aprimidinic endonucleases Nfo and ExoA with the DNA integrity scanning protein DisA in the processing of oxidative DNA damage during *Bacillus subtilis* spore outgrowth", *J. bacteriol.*, Vol.196,3, 2014, pp.568-578.
8. F. H. Ramírez-Guadiana, R. Carmen Barajas-Ornelas, V. M. Ayala-García, R. E. Yasbin, E. Robleto and M. Pedraza-Reyes, "Transcriptional coupling of DNA repair in sporulating *Bacillus subtilis* cells", *Mol. Microbiol*, Vol 90,5, 2013, pp. 1088-1099.
9. W. L. Nicholson, "Sporulation, germination and outgrowth" in *Molecular biological methods for Bacillus* (Wiley and Sons, 1990) pp. 391–450.
10. A. Barzilai and K. I. Yamamoto, "DNA damage responses to oxidative stress", *DNA repair*, Vol. 3,8, 2004, pp. 1109-1115.
11. J. R. Ibarra, A. D. Orozco, J. A. Rojas, K. López, P. Setlow, R.E. Yasbin and M. Pedraza-Reyes, "Role of the Nfo and ExoA apurinic/aprimidinic endonucleases in repair of DNA damage during outgrowth of *Bacillus subtilis* spores", *J. bacteriol.*, Vol.190,6, 2008, pp.2031-2038.
12. P. C. Hanawalt and G. Spivak, "Transcription-coupled DNA repair: two decades of progress and surprises", *Nat. rev. Mol. Cell Biol.*, Vol. 9,12, 2008, pp.958-970.
13. J. J. Truglio, D. L. Croteau, B. Van Houten, and C. Kisker "Prokaryotic nucleotide excision repair: the UvrABC system", *Chem. Rev.*, Vol. 106,2, 2006, pp. 233-252.
14. M. Bejerano-Sagie, Y. Oppenheimer-Shaanan, I. Berlatzky, A. Rouvinski, M. Meyerovich and S. Ben-Yehuda, "A checkpoint protein that scans the chromosome for damage at the start of sporulation in *Bacillus subtilis*", *Cell*, Vol. 125, 4, 2006, pp. 679-690.

EFFECTO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE *LUPINUS EXALTATUS ZUCC* SOBRE LA EXPRESIÓN DE LA PROTEÍNA HSP-16.2 EN EL *C. ELEGANS* SOMETIDO A ESTRÉS TÉRMICO

Miguel Antonio Maldonado-Rubio, Gabriela Camargo-Hernandez, Pedro Macedonio García-López, Ramón Rodríguez-Macias, Juan Francisco Zamora-Natera, Jacinto Bañuelos-Pineda y Leonardo Hernandez

Unidad Académica de Agricultura-Universidad Autónoma de Nayarit,
Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Guadalajara,
Centro Universitario de Ciencias de la Salud. Universidad de Guadalajara.

RESUMEN

El estrés oxidativo se asocia al envejecimiento, al deterioro funcional y al aumento en la mortalidad. Esto ha fundamentado estudios sobre daño oxidativo en modelos animales como el nematodo *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*). Existen productos naturales con presuntas propiedades antioxidantes capaces de reducir el daño oxidativo, como el extracto metanólico de *Lupinus exaltatus Zucc* (EMLEZ), una planta endémica de los estados del centro-occidente de México. OBJETIVO: Evaluar el efecto de EMLEZ, contra daño oxidativo inducido sobre el organismo *C. elegans*. METODOLOGÍA: Utilizamos *C. elegans* adultos de la cepa N2 Wild type, y de la cepa transgénica TJ375. En nematodos N2 se examinó la supervivencia a diferentes dosis de EMLEZ, y en la cepa TJ375 se exploró el efecto de la exposición a choque de calor (HS, 34 °C por 1 h) sobre la expresión de la proteína HSP-16.2 en los grupos control, HS, EMLEZ y HS+EMLEZ. RESULTADOS: EMLEZ no tuvo un efecto negativo en cuanto a la supervivencia de los nematodos expuestos, En nematodos expuestos a HS se observó un aumento en la expresión de la HSP-16,2 con respecto al control, mientras que el tratamiento con EMLEZ (0.5 mg/ml) durante el HS, disminuyó la expresión de HSP-16.2 con respecto al control, pero la aumento sin HS. Probablemente el EMLEZ induce protección aumentado la expresión de proteínas de respuesta al estrés.

INTRODUCCIÓN

Los sistemas biológicos, incluido el cuerpo humano, mantienen un balance de óxido-reducción constante, preservando el equilibrio entre la producción de pro-oxidantes que se generan como resultado del metabolismo celular y los sistemas de defensas antioxidantes [1]. La pérdida de este balance lleva a un estado de estrés oxidativo (EO), que se caracteriza por un aumento en los niveles de las llamadas especies reactivas de oxígeno (ERO) que no alcanzan a ser compensadas por los sistemas de defensa antioxidante. Esto provoca daño y muerte celular, y esto se ha asociado con el envejecimiento y muchas enfermedades, entre ellas enfermedades crónico-degenerativas [2].

El estrés oxidativo es incompatible con la vida a menos que existan mecanismos antioxidantes celulares de defensa que los neutralice. Dentro de los antioxidantes endógenos se encuentran 3 enzimas que son fundamentales; la catalasa (CAT), la superóxido dismutasa (SOD) y la glutatión peroxidasa (GPx). Estas enzimas destoxifican los compuestos reactivos superóxido y peróxido de hidrógeno (H₂O₂). La SOD convierte el superóxido en agua y la CAT y GPx produce agua y oxígeno a partir del H₂O₂ [1]. Dada la complejidad de las rutas intracelulares por las que se pueden generar radicales libres, se ha sugerido que los antioxidantes exógenos pueden ofrecer protección contra el daño oxidativo.

En los últimos años, el empleo de antioxidantes sintéticos con fines terapéuticos ha sido altamente cuestionado. 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. Un candidato a agente antioxidante es el extracto metanólico de las semillas de plantas del género *Lupinus*. 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. Investigaciones realizadas por Prahlad (2009) y Johnson (2010) donde han examinado las propiedades antioxidantes de extractos de plantas, algunos de estos se han realizado usando modelos animales, incluyendo al nematodo *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*).

El *C. elegans* es un organismo simple, de fácil mantenimiento en el laboratorio y bajo costo. Además, se ha demostrado que 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 un análogo de la vía de señalización del factor de crecimiento I similar a la insulina (IGF-1 por sus siglas en inglés). 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. Una serie de proteínas cuya transducción depende de la vía IGF-1 y relacionada directamente con la respuesta al estrés son las proteínas de choque de calor (HSPs, por sus siglas en inglés). Generalmente las HSPs pueden ser subdivididas dentro de tres familias de acuerdo con su peso molecular: la de 80- a 90-kD, de 70-kD y las HSPs de 20- a 30- kD [4, 5]

De modo notable, la respuesta al estrés y proteínas de estrés son ubicuas, de mecanismos y genes altamente conservados, y presentes desde los procariontes. Las proteínas chaperonas protegen al proteoma contra daño conformacional, mantiene la homeostasis de proteínas y promueve los mecanismos de plegamiento y eliminación de proteínas, mientras minimiza el estrés causado por la acumulación de proteínas mal plegadas y dañadas. La expresión crónica de proteínas propensas a la agregación, es nociva para la célula y se ha ligado a un amplio rango de desórdenes conformacionales. Consecuentemente, la preservación de una respuesta robusta al estrés y la eliminación de proteínas son indispensables para la salud y la longevidad. En el nematodo *C. elegans*, se han identificado HSPs-16. Estas HSPs son de 16 kD (hsp-16.1 hsp-16.2 hsp-16.41, y HSP-16.48) y solamente se expresan en condiciones de estrés, en el *C. elegans* están codificadas por seis genes íntimamente relacionados [6]. Así, las HSPs y los factores de transcripción que les dan origen en el *C. elegans* están también filogenéticamente conservadas en los mamíferos, y en este sentido, este nematodo 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

Obtención del extracto. Se utilizó extracto metanólico de *Lupinus exaltatus* Zucc (EMLEZ), el cual fue obtenido a partir de plántulas de *lupinus exaltatus* Zucc, realizando la técnica de extracción por rotavapor (Buchi B100, Büchi Labortechnik AG, Suiza) que fue programado para la destilación al metanol (122 milibar, baño maría a 41°C y refrigerante a 10 °C), posteriormente se empleó la técnica de extracción en fase sólida donde en un colector de vacío de 12 líneas Teknokroma TR-004012, (Teknokroma Analítica, S.A., España) se colocaron los cartuchos de 5 g de C-18 para flavonoides y SCX para alcaloides para la separación de compuestos. Para la purificación del extracto se volvió a utilizar el rotavapor. El revelado de los compuestos fenólicos fue a través de placas de cromatografía en capa fina (TLC) y empleando un haz de luz ultravioleta.

Protocolo experimental en el organismo modelo. Se utilizaron nematodos adultos de edad sincronizadas de la cepa N2 Wild Type (N2 WT) del tipo Bristol y la cepa TJ375 (HSP-16.2::GFP),

que fueron obtenidas del Caenorhabditis Genetics Center (Minneapolis, MN, EUA). El mantenimiento y manejo de estas cepas se realizó según los métodos estándar descritos por Brenner (1974). Se realizó una curva de supervivencia de Kaplan-Meier para determinar las concentraciones de EMLEZ. Se utilizó la cepa TJ375 para el protocolo de choque de calor, donde se expuso esta cepa a un choque térmico a 34°C con ayuda de un baño maría. Se generaron cuatro grupos (un grupo control, un con 0.5mg/ml de EMLEZ, un con choque térmico y uno con choque térmico más 0,5mg/ml de EMLEZ. Todas las imágenes de epi-fluorescencia fueron capturadas usando un objetivo 20X de un microscopio invertido Olympus IX71.

Análisis estadístico. 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 las pruebas post-hoc de Tukey o de Student-Newman-Keuls para determinar diferencias significativas. Se consideró una diferencia estadísticamente significativa cuando se encontró una $P < 0.05$.

RESULTADOS

En cuanto a los resultados del revelado de la placa TLC se mostró que el EMLEZ contenía flavonoides la cual se observaron a una longitud de onda de 366nm. La información que nos arrojó la curva de supervivencia de Kaplan-Meier, fue que las concentraciones 0.1 y 0.5 mg/ml de EMLEZ tuvieron un comportamiento similar al control en cuanto a la supervivencia de los nematodos con un porcentaje de 98%, mientras tanto la concentración de 1 mg/ml mostró una supervivencia del 86% a comparación del control. Los experimentos con fluorescencia mostraron que el grupo EMLEZ y el grupo HS aumentaron la expresión de HSP-16.2::GFP más del 100% (105.7 ± 4 y $129.5 \pm 2\%$ respectivamente) con respecto al control. Por su parte, el tratamiento con EMLEZ durante el choque de calor, disminuyó la expresión de HSP-16.2::GFP en 22.6 ± 4 con respecto al control. Estos cambios fueron estadísticamente significativos (ANOVA de una vía, $P < 0.001$ con la prueba post-hoc de Tukey)

CONCLUSIONES

A partir de la realización de este trabajo pudimos analizar el efecto antioxidante del EMLEZ, utilizando al *C. elegans*, el cual probó ser un organismo modelo adecuado para tal fin. Asimismo, el tratamiento con EMLEZ ofrece protección contra el daño inducido por H_2O_2 visto desde la supervivencia del nematodo e induce un incremento de la expresión de la proteína HSP-16.2 en el nematodo *C. elegans* respecto a los nematodos no tratados. Por otro lado, el tratamiento con EMLEZ reduce la expresión de HSP-16.2 en gusanos sometido a choque térmico después de 4 horas de reposo. De lo anterior se infiere que el EMLEZ confiere protección al daño oxidativo inducido por choque térmico, probablemente aumentando la expresión de proteínas de respuesta al estrés.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.Gutiérrez Venereo, J.R., *Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes*. Revista Cubana de Medicina Militar, 2002. **31**(2): p. 126-133.
- 2.Cabrera Céspedes, T. and D. Serrano, *Algunos Aspectos Sobre El Estrés Oxidativo, El Estado Antioxidante Y La Terapia De Suplementación*. Instituto de Cardiología y Cirugía Cardiovascular, 2000. **14**(1): p. 55-60.
- 3.Adyary, L.F., *Actividad antioxidante y neuroprotectora in vitro del extracto acuoso del alga Bryothamnion triquetum (Ceramiales, Rhodomelaceae)*. in *Departamento de Bioquímica*. 2005, Universidad de La Habana: Cuba. p. 5-45.
- 4.Link, C.D., et al., *Direct observation of stress response in Caenorhabditis elegans using a reporter transgene*. Cell stress & chaperones 1999. **4**: p. 235-242.

5. Stringham, E.G., et al., *Temporal and spatial expression patterns of the small heat shock (hsp16) genes in transgenic Caenorhabditis elegans*. Mol Biol Cell 1992. **3**: p. 221-233.
6. Christopher, L., et al., *Direct observation of stress response in Caenorhabditis elegans using a reporter transgene*. Harcourt Publishers, 1999. **4**: p. 235-242.
7. Chiang, W.C., et al., *C. elegans SIRT6/7 homolog SIR-2.4 promotes DAF-16 relocalization and function during stress*. PLoS Genet, 2012. **8**(9): p. e1002948.

CONDUCTA DE AGRESIÓN EN EL MACHO HÁMSTER SIRIO DORADO: EFECTO DE LA INTERACCIÓN SEXUAL Y SOCIAL.

Ricardo Martínez Acevedo, Javier Olvera Ramírez, María del Carmen Navarro Maldonado,
Alfredo Trejo Córdova y Demetrio Ambriz García

Licenciatura en Biología.

Departamento de Biología.

Departamento de Biología de la Reproducción. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.
deme@xanum.uam.mx

RESUMEN

En condiciones de libertad el hámster Sirio Dorado vive preferentemente aislado. Los machos mantienen contacto ocasional con las hembras para el apareamiento, mostrando conducta de agresión ante otros encuentros fortuitos con hembras y machos. En los bioterios, por desconocimiento y conveniencia, los machos hámsteres permanecen en grupo, aparentemente con la conducta de agresión abatida. Con la finalidad de probar si estímulos sexuales y sociales de corta duración, son capaces de desplegar la conducta natural de agresión, se realizó el presente trabajo. Veintiocho machos de 12 meses de edad y 130 gr de peso promedio (Gpo. A), permanecieron desde el destete (21 días) en grupos de 7 individuos. El grupo B lo conformaron 6 machos sexualmente expertos, de 12 meses de edad y 143 gr de peso promedio, que permanecieron en cajas individuales. Se efectuaron 8 experimentos proporcionando estímulos de interacción social y sexual para observar si se desencadenaba la conducta de agresión, claro está que en caso de mostrarla los animales eran separados de inmediato para evitar lesiones: 1.- (Gpo. A) Se intercambió un macho de cada caja. 2.- (Gpo. B) se colocaron en una caja neutral juntos. 3.- Cada macho del grupo B, se le colocó un intruso del grupo A. 4.- Cada macho del grupo B, se le introdujo una hembra receptiva y posteriormente un macho del grupo A. 5.- Siete machos del grupo A se colocaron en cajas individuales durante 45 días y posteriormente se les introdujo un macho del grupo B. 6.- Siete machos del grupo A se aislaron por 45 días al cabo de los cuales se reunieron. 7.- Fue introducida una hembra receptiva al grupo A y 8.- Como el anterior y al sacar la hembra, se introdujo un macho del grupo B. Solo se encontró conducta de agresión al reunir machos del grupo B (experimento 2), con una latencia de 7 seg, presencia de olfacción, vocalización y finalmente contacto. Se concluye que con los estímulos aquí probados, la conducta de agresión solo se presentó en aquellos sujetos de cajas individuales (grupo B, experimento 2) y que además estuvieron interesados en desarrollarla.

INTRODUCCIÓN

El hámster Sirio Dorado (*Mesocricetus auratus*) ha sido utilizado ampliamente como modelo experimental para el estudio de la conducta de agresión. Las investigaciones relacionadas han considerado esta conducta presente entre individuos de ambos géneros en vida libre en su hábitat. Además, en condiciones controladas de laboratorio se han hecho aportaciones muy relevantes (Schwartz et al., 2013; Lai et al., 2014; González et al., 2015).

La conducta de agresión permite prioritariamente a los individuos de esta especie competir por los recursos necesarios para su sobrevivencia. Dichos recursos en zona semidesértica, lugar de origen de esta especie, son especialmente limitados, razón por la cual estos individuos prefieren vivir relativamente aislados, teniendo solo dos momentos de su ciclo vital para interactuar social y sexualmente: durante el apareamiento y durante la lactancia (Figura 1) (González et al., 2015).

En condiciones de bioterio, hemos observado que las hembras mantenidas en grupos, muestran habitualmente conducta de agresión. Los grupos de hembras recién conformados tienden a buscar rápidamente la estabilización jerárquica, de tal manera que, si entra o sale algún individuo del grupo, rápidamente se presenta la conducta de agresión, además, si no hay movimientos de

entrada y salida de individuos pero sí cambios en los niveles de dominancia de los ya existentes, también se presenta dicha conducta. En los grupos constituidos de machos en condiciones de bioterio, esta conducta está prácticamente abatida, pues los movimientos de individuos (entrada y salida) en el grupo, así como la variación en los niveles jerárquicos, no la motivan.

La agresión es una conducta que se manifiesta cuando existe algún estímulo amenazante, ya sea físico, olfativo o de sonido, por parte de otro organismo, con la finalidad de defensa o ataque.

De acuerdo con lo anterior, la conducta agresiva en modelos de roedores puede ser clasificada como defensiva u ofensiva. La conducta agresiva defensiva incluye escape, postura estática, postura de protección y amenazas. Por su parte, la conducta agresiva ofensiva entre congéneres se organiza ritualmente, compuesta por amenazas presentando el cuerpo de costado, persecución, posturas defensivas en posición vertical, que implica la apertura de brazos, manos y dedos y propensión al ataque (Figura 2) (Takahashi A. y Miczeck K. 2014).

La conducta agresiva es un rasgo biológico de los organismos y constituye una herramienta para la supervivencia de la especie. A través de la escala filogenética, el despliegue de la conducta agresiva posee una importante función biológica. Su correcta expresión permite al organismo la adquisición y defensa de un territorio, definición de su estatus social, obtención de recursos vitales (agua y comida) y el acceso a una pareja. Incluso dentro de la teoría evolutiva, la fortaleza de un individuo (estimada por fecundidad y el éxito reproductivo) podría estar directamente relacionada con la apropiada expresión de la conducta agresiva (Soria *et al.*, 2008). Expertos en la conducta agresiva como (Ramírez, 2006), han clasificado la conducta de agresión en: agresión predatoria, agresión inter-machos, agresión inducida por el miedo, agresión territorial, agresión maternal, agresión irritable, agresión relacionada con el sexo y agresión instrumental.

Por otro lado, la conducta de agresión puede activarse o inactivarse por medio de neuro reguladores, los cuales son sustancias químicas que fundamentan la actividad mental, y en consecuencia, muchos aspectos de una eventual alteración comportamental, pueden estar ocasionados por perturbaciones en la neurotransmisión (Gil-Verona., 2002).

Se ha descrito a la sustancia P, la acetilcolina y el glutamato como moduladores de la conducta agresiva. Los moduladores del miedo son el glutamato, neuropéptidos como el inhibidor de la unión del diazepam, el factor liberador de corticotrofina, la colecistocinina, la hormona estimulante del melanocito y al neuropéptido Y (García *et al.*, 2007).

Uno de los neuro reguladores en el hipotálamo con fuerte vinculación en el nivel de agresión es la Vasopresina Arginina (AVP) que es una hormona cerebral. También el córtex prefrontal envía proyecciones glutamatérgicas a varias áreas del cerebro las cuales están vinculadas con la agresión, pues al glutamato se le atribuye un desequilibrio entre la excitación glutamatérgica y la inhibición GABAérgica (ácido GABA γ -aminobutírico) en áreas límbicas. Un análisis en la expresión del gen c-Fos ha identificado varias áreas del cerebro, las cuales están implicadas en la agresión entre machos.

Para los roedores, el olfato es una entrada sensorial importante ante la regulación de comportamientos sociales. La información olfativa sobre un intruso se procesa primero por el bulbo olfatorio y luego se proyecta hacia la amígdala, a través del tracto lateral. Por lo tanto, el sistema olfativo es la primera ubicación para la evaluación de la calidad del oponente. Los roedores machos dominantes muestran un aroma territorial particular (Takahashi y Miczeck 2014).

El objetivo del presente trabajo fue observar la conducta de agresión entre machos hámster Sirio Dorado (*Mesocricetus auratus*) que han permanecido en grupo sin experiencia sexual o permanecido aislados con experiencia sexual, ante estímulos de corta duración de interacción social o sexual.



Figura 1. Hámster en vida libre.

Tomada de: <https://lejournaldesanimaux.fr/wp-content/uploads/2014/07/grand-hamster-alsace-europe1.jpg>

MÉTODO

Se utilizaron dos grupos de machos hámster. El primero de ellos (grupo A) conformado por 28 animales de 12 meses de edad y 130 gr de peso promedio, colocados a su vez en grupos de 7 individuos por caja de acrílico de dimensiones de 45cm de largo, 29cm de ancho y 20cm de alto cubiertas con rejillas metálicas. A cada caja se le colocó cama de viruta de madera esterilizada y se les proporcionó alimento en pellets (marca ABENE) y agua fresca y limpia a libertad. Se mantuvieron a temperatura ambiente de 21 °C, humedad de 55 %, y fotoperiodo de 14 horas luz (4am-6 pm)/10 hr de oscuridad. Estos grupos fueron conformados desde el destete (21 días de edad) y los machos no tuvieron interacción sexual con hembras. Cada macho se rasuró para identificación individual. Se utilizaron también hembras receptoras en estro, de 3 meses de edad y peso promedio de 110 gr.

El grupo B se conformó por 6 machos de 12 meses de edad y 143 gr de peso promedio, los cuales fueron utilizados frecuentemente para la colonia de reproducción y que por esta razón cada macho se encontraba individualmente en una caja de acrílico de las siguientes dimensiones: 24cm de ancho, 34 cm de largo y 15cm de altura, cubierta con una rejilla metálica, con cama de viruta estéril donde se provee de alimento y agua a libre acceso. Cada macho se rasuró para identificación individual.

Se procedió a la realización de pruebas conductuales con estímulos de corta duración de interacción social o sexual para observar la conducta de agresión bajo el modelo de “residente intruso” y algunas de sus modificaciones propuesto por Jeffress y Huhman en 2013.

Se diseñó y utilizó una tabla de datos de unidades de comportamiento tales como el tiempo de latencia o tiempo desde un evento específico hasta la presentación de los siguientes comportamientos: olfacción; acción para detectar olor en un macho desconocido, vocalización; emisión de sonidos y contacto; intento de abrazo, lo cual indica el inicio de la conducta de agresión ante un estímulo, momento en que la prueba fue suspendida para evitar lesiones. Cabe señalar que para los fines del presente estudio los sonidos considerados fueron los percibidos por el oído humano, no considerando en consecuencia los ultrasónicos.

Experimento 1.

Fue realizado con machos del grupo A. Un individuo de cada caja fue intercambiado a otra caja receptora. Se observó durante 1 minuto la conducta de grupo y se registraron los resultados. El macho intercambiado entre cajas fue uno diferente cada día y se repitió la prueba a la misma hora

(13:00 hrs) durante 3 días. Se procuró colocar el macho a un extremo de la caja para determinar los tiempos de latencia y comportamientos.

Experimento 2.

Fue realizado con individuos del grupo B que permanecían en cajas individuales. Para este experimento se utilizó una caja de acrílico de dimensiones de 40cm ancho, 50cm largo 21cm alto, a manera de espacio neutral, con cama de viruta. Se colocaron los 6 machos juntos y se observó la conducta durante 1 minuto. Se repitió esta prueba a la misma hora (13:00 hrs) durante 3 días.

Experimento 3.

Fue realizado con machos del grupo A y B. A cada macho del grupo B en su caja individual, le fue colocado un macho del grupo A. Se observó la conducta durante 1 minuto, cada día a la misma hora. Se repitió este experimento durante 3 días.

Experimento 4.

Fue realizado con machos del grupo A, B y una hembra. A cada macho del grupo B en su caja individual le fue introducida una hembra en proestro con receptividad manifiesta durante medio minuto, para que olfatearan a la hembra, posteriormente le fue colocado un macho del grupo A. Se observó la conducta de los dos machos con la hembras durante 1 minuto, cada día a la misma hora. Se repitió este experimento durante 3 días.

Experimento 5.

Fue realizado con machos del grupo A y B. Cada macho del grupo A se colocó en una caja individual durante 45 días, al cabo de los cuales le fue introducida una hembra en proestro con receptividad manifiesta. Cuando el macho atendió la presencia de dicha hembra (intentos de monta), le fue colocado un macho del grupo B. Se observó la conducta de los dos machos y la hembra durante 1 minuto, cada día a la misma hora. Se repitió este experimento durante 5 días.

Experimento 6.

Fue realizado con machos del grupo A. Cada macho fue colocado en una caja individual durante 45 días. Posteriormente se reconfirmó el grupo en la caja que ocupaban y se observó la conducta durante 15 minutos. Se repitió este experimento en 3 ocasiones.

Experimento 7.

Fue realizado con machos del grupo A en caja común y les fue introducida una hembra en estro. Se observó la conducta durante 1 minuto, cada día a la misma hora. Se repitió este experimento por 3 días.

Experimento 8.

Fue realizado con machos del grupo A, B y una hembra en estro. A los machos del grupo A les fue introducida una hembra en estro durante un minuto, cumplido el tiempo la hembra fue retirada de la caja. Posteriormente se colocó un macho del grupo B y se observó la conducta durante 1 minuto, cada día a la misma hora, se repitió este experimento por 3 días.



Figura 2. Patrón de conducta de agresión entre hámsteres.

Tomado de: http://i0.wp.com/tuhamster.com/wp-content/uploads/2014/01/hamster_fight1.jpg

RESULTADOS

Experimento 1

Se observó que, al introducir un macho intruso a la caja residente (con 6 machos, puesto que uno fue retirado), la detección al intruso por parte de los machos en grupo fue de manera inmediata (2 seg), solo se presentó olfacción por parte del grupo de machos hacia el intruso. No se presentó emisión de vocalización perceptible al oído humano, ni contacto. Luego de este tiempo el comportamiento cambio por indiferencia hacia el intruso, por lo que los residentes continuaron con sus actividades cotidianas. De acuerdo con estas observaciones no se presentó conducta de agresión.

Experimento 2

Se observó que los machos que estaban aislados y que fueron reunidos en una sola caja, mostraron rápidamente la conducta de agresión (3 seg). Los machos comenzaron a caminar por toda la caja procurando reconocer el territorio, posteriormente comenzó la agresión, conformada en pares, con aproximación, amenazas y sonidos alusivos hasta llegar a contacto especialmente en cara y brazos. En cuanto hubo esta manifestación de inmediato se separó a los animales para evitar lesiones.

Experimento 3

Se observó que el macho residente B, de manera inmediata detectó la presencia del macho intruso (2 seg), reconociéndolo por medio de la olfacción, la duración de la olfacción entre los machos fue de 25 segundos. Posteriormente, mostraron indiferencia tanto el macho A como el macho B. ambos se distanciaron a extremos opuestos de la caja. No hubo conducta agresiva.

Experimento 4

Se observó que el macho B de manera inmediata (1 seg), comenzó a olfatear a la hembra en el área genital. Al momento de introducir al macho del grupo A, el macho residente no notó la presencia del macho introducido, pues toda su atención estaba centrada en la hembra, sin embargo, el macho A después de 10--12seg, notó la presencia de la hembra que estaba en la caja. El macho A comenzó a olfatear al macho B, posteriormente olfateó a la hembra en el área genital. La hembra al ser olfateada y asediada por dos machos se alejó de ellos, momento en que los

machos comenzaron a olfatearse mutuamente. Posteriormente el macho A mostró indiferencia hacia el macho B, y continuó buscando a la hembra. El macho B, permitió el cortejo del macho A con la hembra. No se registró agresión.

Experimento 5

Los machos A fueron aislados a cajas individuales durante 45 días y a cada uno de ellos le fue introducida una hembra receptiva, a la cual cortejó e intentó montar, posteriormente se introdujo un macho B. Hubo rápidamente olfacción del macho A al B (1 seg), que desapareció rápidamente (5 seg). El macho intruso del grupo B prefirió reconocer el territorio que interactuar con la hembra o el macho residente. No hubo agresión.

Experimento 6

Los machos de grupo A, luego de 45 días de estar aislados en cajas individuales fueron reunidos en una caja común. Los machos comenzaron rápidamente con olfacción (2 seg) que continuo por un breve tiempo (10 seg), después continuaron reconociendo el territorio. No hubo agresión.

Experimento 7

A los machos en grupo A aislados en cajas individuales durante 45 días y reunidos en caja común, se les introdujo una hembra receptiva. Se observó una inmediata respuesta de olfacción (2 seg) de todos los machos, acercándose y amontonándose hacia la hembra. La olfacción fue preferentemente en el área genital. La hembra intentó alejarse de los machos, a pesar de ello, los machos seguían con la olfacción del trayecto de la hembra, atendiendo la secreción vaginal dejada por la hembra. No se observó conducta de agresión.

Experimento 8

Los machos del grupo A fueron aislados durante 45 días en cajas individuales, posteriormente reunidos y les fue introducida una hembra en estro y posteriormente retirada. En esa condición les fue introducido un macho del grupo B. Se observó olfacción inmediata (1 seg) por parte del macho B hacia los machos del grupo A. La hembra colocada con anterioridad dejó marcas de secreción en los machos A y en la cama de la caja. Los machos del grupo A notaron la presencia del macho B (10 seg) acercándose, olfateando y amontonándose como si se tratara de la hembra, ante ello la conducta del macho B fue intentar escapar del asedio de los machos del grupo A. No hubo agresión.



Figura 3. El apareamiento puede desencadenar agresión entre machos

Tomado de: <http://3.bp.blogspot.com/-sHtC7R53fF8/VBeyZi33u1I/AAAAAAAAAUE/YvjLu8JFlow/s1600/hamstersexo.jpg>

DISCUSIÓN

Se observó que en condiciones de bioterio, el mantener a los machos hámster en grupo desde el destete y hasta la edad adulta, abate el despliegue de la conducta de agresión, cediendo a la

monotonía del ambiente provisto, sin la necesidad de jerarquizar, rivalizar o mostrar conducta de agresión ante los demás machos de la caja, dado que los satisfactores a conseguir son básicamente alimento y agua, mismos que los tienen cotidianamente y en cantidad suficiente. El espacio disponible en la caja compartida, podrá parecer parcialmente restringido pero es el que reconocen y del que disponen desde el nacimiento, por lo tanto, tampoco es motivo de lucha (Escobar y Gómez, 2006). Por otro lado, es evidente que la agresión en grupos de hembras hámster es común y que por ende, esta conducta de agresión se regula de manera diferencial entre géneros. Se ha señalado como responsable para la presentación de la agresión en los machos, a la testosterona, sin embargo, existe evidencia en humanos que convictos adultos con historial de agresión presentan altas concentraciones de testosterona, en tanto que individuos jóvenes en esa misma condición tienen niveles normales de testosterona, por lo que se ha cuestionado si el aumento en la concentración de testosterona es causa o efecto de la agresión (Ramírez, 2006). En relación a hámsteres se conoce que los machos ganadores en conflictos probado a través del modelo "residente intruso" tienen mayores niveles de testosterona (Jeffress y Huhman, 2013) Además que la conducta de agresión tiene factores reforzantes que la van reafirmando, así en el hámster sirio ha sido demostrado que la tendencia de machos que ganan o pierden una pelea con un congénere tienen más a esa misma condición (perder o ganar) en un subsecuente conflicto con otro congénere (Huang *et al.*, 2011)

El que la conducta de agresión de los machos hámster mantenidos en grupo desde el destete y hasta adultos, haya quedado abatida supeditada a la disposición de recursos vitales de manera cotidiana y a la inutilidad de esta conducta ante el ambiente monótono y sin competencia. Los estímulos ofrecidos a los animales en este trabajo a través de los diferentes experimentos conductuales efectuados, mostraron que las interacciones sociales y las sexuales no fueron capaces de desencadenar la conducta de agresión en los machos mantenidos en grupo. A la vez que, aun aislando a estos machos en cajas individuales durante 45 días y volviendo a efectuar pruebas de interacción social y sexual, la conducta de agresión no se presentó. Al respecto Schwartz et al en 2013, estudiando conducta de agresión en el hámster Sirio recomiendan para evidenciar mejor dicha conducta seguir un proceso de entrenamiento de los machos para enfrentamiento, durante 14 días continuos. Ellos mantuvieron a los machos hámster aislados durante ese tiempo. En el presente estudio los machos del grupo A, se mantuvieron en grupo y en ninguna de las pruebas mostraron la conducta de agresión. Por su parte los machos que estuvieron aislados del grupo B, si la mostraron, cuando estuvieron todos juntos en un espacio neutro, pero cabe señalar que esto ocurrió por pares y siempre y cuando estuvieran dispuestos ambos en desarrollarla. La ausencia de conducta de agresión los machos del grupo A, pudo deberse a la corta duración de las pruebas ya que, González *et al.* (2015), utilizando machos en grupo en las condiciones aquí descritas, proporcionaron elementos de enriquecimiento ambiente fuera del bioterio, consistiendo en más espacio vital, dieta alternativa con semillas y aparatos para recreación durante 14 días, al cabo de los cuales la conducta de agresión fue mostrada. Sugiriendo con ello que es posible ver la manifestación de agresión en machos hámster mantenidos en grupo, a través de estímulos de interacción social proporcionados durante mayor tiempo.

En relación a los machos que permanecieron aislados y utilizados comúnmente para la colonia de reproducción, cuando estuvieron en contacto con machos mantenidos en grupo ya sea en calidad de intruso o como residente y con presencia o no de hembra receptiva, no se presentó la conducta de agresión. Esto pudo obedecer, como se explicó con anterioridad, a la corta duración de los estímulos y a que los residentes o intrusos mantenidos en grupo, no presentaron indicios de conducta de agresión ni la generaron con los machos aislados.

El experimento 2 del presente trabajo fue el único que en una caja neutral a los machos utilizados en colonia de reproducción y que se mantenían aislados. Sin embargo, se decidió en este grupo B, no utilizar la prueba de residente intruso ante la eminente presentación de la conducta de agresión. Los machos de ese grupo (mantenidos aislados) fueron reunidos en una caja neutra, para que el estímulo de reconocimiento de espacio privara entre ellos, pero aun así, la conducta de agresión con sus manifestaciones de olfacción, vocalización y contacto, se presentó entre pares que estuvieron dispuestos a desarrollarla. Denotando que esta conducta de agresión se presenta

entre machos hámster y que depende de las condiciones de crianza y mantenimiento, así como de los estímulos presentados y su duración.

Es conocido que los machos mamíferos tienden de manera general a ser más agresivos que las hembras (Escobar y Gómez, 2006). Por ejemplo, los machos ratones rara vez atacan a las hembras. Y machos hámster mantenidos en condición grupal rara vez tienen manifestación de agresión entre sí. En tanto que las hembras hámster tienden a presentar la conducta de agresión de manera más común. Al respecto se ha señalado que el ciclo estral confiere a las hembras una variación de estados conductuales y que éstos pueden estar involucrados en la presentación de la conducta de agresión.

CONCLUSIÓN

La conducta de agresión de los machos hámster Sirio dorado mantenidos en grupo, permanece abatida y no se desencadena a pesar de estímulos de interacción social y sexual de corta duración. En el caso de machos mantenidos de manera aislada, si presentan la conducta de agresión entre pares interesados y dispuestos a desarrollarla.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Escobar y Gómez B. Violencia y Cerebro. Revista Mexicana de Neurociencias Vol 7 No 2, 2006 pp 153-163.
2. H. García, A, Alemán, A Delhameu, T. Ramírez. Estudios acerca de la conciencia. Selección de temas publicados en Journal of Consciousness Studies. Tomo II (1999-2003) Ed. Oscar Mario García Hernández. Primera Edición. Mex. 354 pp
3. J.A Gil-Verona. Psicobiología de las conductas agresivas. Anales de psicología, Vol. 18, No. 2, , 2002. pp 293-303.
4. E González, Guillén, N, Contreras, JL., Salame, A, Navarro MC, Trejo A y D.Ambriz. Concentración espermática en hámster sirio dorado con enriquecimiento ambiente. 2015. XII Encuentro Participación Mujer en la Ciencia.
5. C. Huang, M Kuo, W, LAi. Characterization of behavioural responses in different test contexts after a single defeat in male golden hamsters (*Mesocricetus auratus*). Behav Processes Vol 86 No 1, 2011, pp 94-101
6. C. Jeffress, K Huhman. Copulatory and agonistic behavior in Syrian hamsters following social defeat. Aggress Behav. Vol 39, No 3, 2013, pp 239-245
7. W. Lai; W. Yu, C. Liu, M Kuo, C. Huang. A new method for studying social eavesdropping using male golden hamsters. Physiol Behav. Vol 128 2014, pp 202-211
8. 3.- M. Ramírez. Bioquímica de la agresión. Psicopatología clínica legal y forense, Vol. 5, 2006, pp 43-66.
9. J. Schwartz, L. Ricci, R. Melloni. Prior fighting experience increases aggression in Syrian hamsters: implications for a role of dopamine in the winner effect. Aggress Behav. Vol 39, No 4, 2013, pp 290-300
10. C. Soria., Perez Vega M. I., Flores Soto M. E. y Feria Velasco A. Papel de la serotonina en la conducta agresiva. Revista mexicana de neurociencia, Vo 6, 2008 pp 480-489.
11. A. Takahashi Aki y Miczek K. A.. Neurogenetics of Aggressive Behavior- Studies in Rodents. Curr Top Behav Neurosci, Vol 17, 2014 3-44.

FABRICACIÓN DE ANDAMIOS TRIDIMENSIONALES DE PLA/PCL SIN Y CON nHA MEDIANTE LA TÉCNICA DISOLUCIÓN Y COLADA

Rosalba Flores Macías, Marco Aurelio Pardo Galván y Ana Edith Higareda Mendoza.

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

RESUMEN

La ingeniería de tejidos es un campo interdisciplinario cuyo objetivo es reemplazar, reparar o restaurar un tejido u órgano dañado por enfermedad, trauma o anomalías congénitas, como las fracturas óseas causadas por la osteoporosis. Esta disciplina busca eliminar las desventajas de los tratamientos clínicos convencionales, prótesis e injertos, que se asocian a morbilidad del sitio donador y al riesgo de transmitir enfermedades. La ingeniería de tejidos comienza con la fabricación de un andamio, el cual deberá ser biocompatible, biodegradable, con poros interconectados y con propiedades mecánicas adecuadas¹. Para la fabricación de éstos existen diferentes técnicas, entre las cuales está la técnica de disolución y colada. Ésta es una técnica simple que presenta varias ventajas como lo son: síntesis de andamios tridimensionales y el control tanto del tamaño de poro como la porosidad². El objetivo fue estandarizar la técnica de disolución y colada con previa fusión de agente porógeno para fabricar andamios polímero cerámicos a base de PLA/PCL (ácido poliláctico/policaprolactona) sin y con nHA (nanohidroxiapatita) a diferentes porcentajes. Con la técnica establecida se lograron fabricar andamios tridimensionales a base de PLA/PCL, PLA/PCL/5% nHA y PLA/PCL/10%nHA de 0.5 cm de alto y 0.9 cm de ancho con poros interconectados, tamaños de poro de hasta 450 nm, superficie rugosa y con una distribución de partículas de hidroxiapatita homogénea.

INTRODUCCIÓN

La osteoporosis, la enfermedad metabólica más frecuente, causa 8.9 millones de fracturas al año a nivel mundial trayendo consigo consecuencias médicas y sociales, por lo que se considera un problema de salud pública³. Actualmente se utilizan ampliamente los injertos autólogos y aloinjertos para el tratamiento de las fracturas, de éstos el estándar de oro de tratamiento es el uso de injertos autólogos debido a que se integran adecuadamente al tejido hospedero y no presenta el riesgo de transmitir enfermedades. A pesar de ello, cuentan con desventajas que limitan su uso como son la necesidad de una segunda cirugía, la poca disponibilidad de cubrir grandes defectos y el riesgo de morbilidad del sitio donador. Por otro lado, los aloinjertos pueden ocasionar reacciones inmunes o transmitir enfermedades. En búsqueda de estrategias alternativas para los tratamientos convencionales de las fracturas o del daño de órganos es como nace la ingeniería de tejidos, cuyo principal objetivo es eliminar las desventajas de éstos⁴.

La ingeniería de tejidos es un campo interdisciplinario que aplica los principios de la ingeniería y de la biología para desarrollar sustitutos biológicos que restauren, mantengan o mejoren la función tisular. Ésta área utiliza tres elementos clave que en un ambiente físico-químico adecuado permiten guiar la regeneración ósea: una matriz tridimensional (andamios); señales y factores de crecimiento, y células⁵.

Los andamios son un componente importante en la ingeniería tejidos ya que funcionan como soporte para que las células se adhieran, proliferen y se diferencien promoviendo así la regeneración, por lo que todo proceso de ingeniería de tejidos comienza con la fabricación de éstos. Los andamios deben ser biocompatibles, bioactivos, biodegradables, porosos e interconectados, y mecánicamente estables¹.

Las propiedades de los andamios dependen de la naturaleza de los biomateriales con los que son fabricados y del método o proceso de fabricación. Actualmente existen diferentes biomateriales utilizados en ésta área, entre los cuales se encuentra los metales, cerámicos, vidrio, polímeros naturales, polímeros sintéticos y combinaciones de estos materiales que forman composites⁵.

Dentro de los métodos de fabricación de andamios están el electrohilado, gas-foaming, extracción congelante, separación de fases inducida térmicamente, disolución y colada, entre otras, cada una presenta ventajas y desventajas que deberán ser consideradas durante la fabricación de los andamios para que cumplan las características deseadas².

TEORÍA

Los biomateriales utilizados para la fabricación de andamios en la ingeniería tisular deben imitar la estructura y composición del hueso natural, sin embargo los diferentes materiales utilizados de manera individual no han logrado cumplir con este requisito¹.

Si bien las biocerámicas son similares a la fase cristalina del hueso, lo que las hace altamente biocompatibles, el uso de éstas es limitado debido a que son frágiles por lo que no pueden ser expuestas a áreas que requieren aplicaciones de carga⁶.

Por otro lado, los polímeros sintéticos a pesar de que presentan un grado de degradación controlable, propiedades mecánicas reproducibles y son de fácil fabricación con formas y tamaños moldeables, presentan desventajas tales como desencadenar reacciones inflamatorias persistentes, propiedades mecánicas incompatibles y baja osteointegración con el tejido hospedero¹.

Para superar este problema se han hecho combinaciones de biocerámicas con polímeros, creando así compositos en donde las biocerámicas son añadidas a la matriz polimérica mejorando así sus propiedades mecánicas. Además, las biocerámicas no sólo contrarrestan la pobre bioactividad de los polímeros, sino que también su naturaleza alcalina neutraliza la degradación ácida de los polímeros¹.

Dentro de los polímeros sintéticos más utilizados se encuentran los poliésteres alifáticos, como el ácido poliláctico y la policaprolactona, y de las biocerámicas la hidroxiapatita, de la cual se ha comprobado que en forma de nanocristales es superior que la hidroxiapatita convencional en la promoción de la adhesión de osteoblastos⁷.

Un aspecto importante a tomar en cuenta para fabricar un andamio con buenas propiedades mecánicas es su porosidad, una estructura con una porosidad mayor al 50% es esencial para que se integre adecuadamente al tejido hospedero una vez implantado; sin embargo, entre mayor sea la porosidad, las propiedades mecánicas se ven afectadas. De igual modo el tamaño de poro es sustancial para la adhesión y proliferación celular, vascularización y paso de nutrientes y desechos, para ello se requiere que el poro sea al menos de 100 μm ⁶.

La técnica disolución y colada es utilizada para obtener andamios tridimensionales. Para ello se coloca el polímero disuelto en un molde con la forma deseada que contenga cualquier sal soluble en agua. Posteriormente, mediante evaporación, se remueve el solvente. El molde se coloca en agua durante suficiente tiempo para que la sal sea eliminada y así obtener una estructura porosa. La principal ventaja que ofrece esta técnica es el control sobre el tamaño de poro y la porosidad según sea requerida. Este control se puede llevar a cabo a través de la modificación de las proporciones utilizadas de sal/polímero o mediante el tamaño de las partículas de sal².

De esta manera se pretende fabricar andamios tridimensionales porosos con la técnica disolución y colada a base de compositos polímero cerámico.

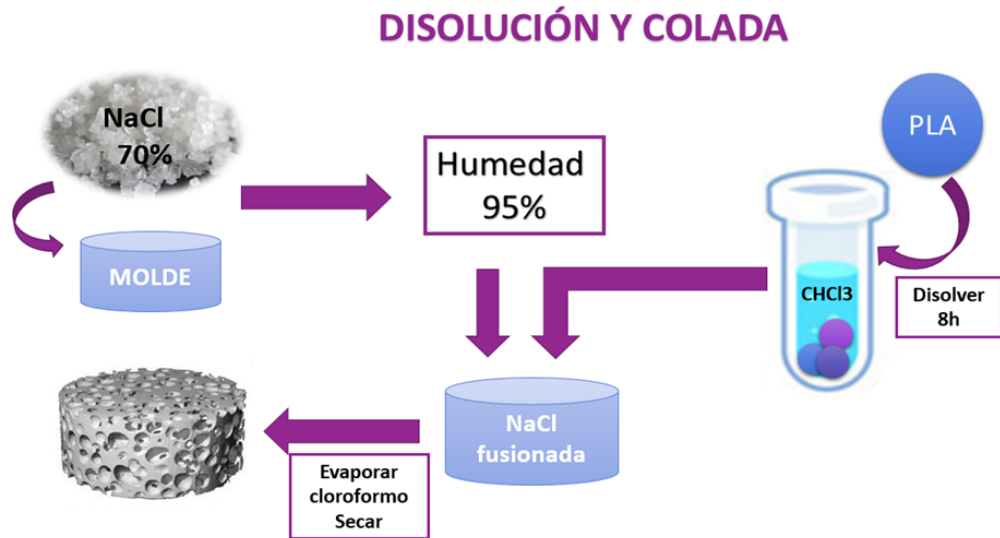
PARTE EXPERIMENTAL

Síntesis de andamios.

Se sintetizaron andamios de tres composiciones diferentes: PLA/PCL, PLA/PCL/5%nHA y PLA/PCL/10%nHA mediante la técnica disolución y colada con previa fusión de agente porógeno. Para ello se utilizó como agente porógeno cristales de cloruro de sodio de diferentes tamaños para garantizar poros de más de 100 micras. La sal fue colocada en moldes de teflón de 1 cm de alto y 0.9 cm de diámetro interno. Posteriormente las muestras fueron sometidas a 95% de humedad en una incubadora que no inyecta CO_2 para establecer la interconexión de dichos poros. Los polímeros fueron disueltos en cloroformo durante 8 horas en agitación a los cuales se les agregó la nanohidroxiapatita en el porcentaje requerido previamente sonicada. Una vez que se obtuvieron los

moldes con la sal fusionada se les agregaron los polímeros disueltos sin y con 5 y 10% de la nanohidroxiapatita correspondientemente. Las muestras se dejaron en un cuarto a temperatura ambiente durante 24 horas para la evaporación del cloroformo. Una vez evaporado éste, se hicieron lavados continuos con agua destilada para eliminar los cristales de cloruro de sodio

atrapados en la matriz polimérica. Finalmente las muestras se dejan secar para poder ser evaluadas. En la siguiente figura se esquematiza el procedimiento:



Morfología.

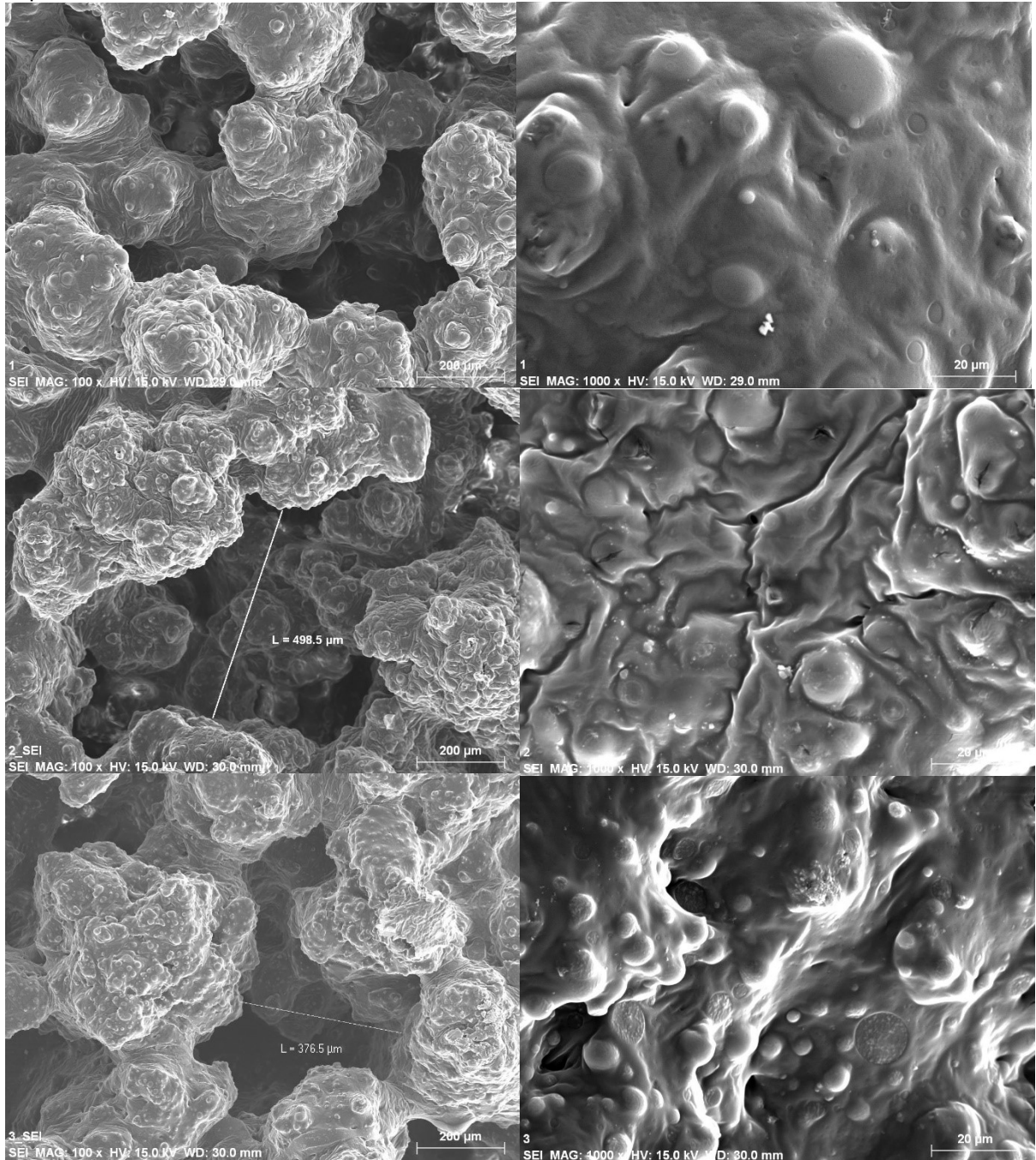
Los andamios fueron observados en un microscopio electrónico de barrido del Instituto de Investigaciones Metalúrgicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo para evaluar la interconexión, distribución y tamaño de poro, así como las características de superficie y distribución de partículas de nanohidroxiapatita. Para ello los andamios se deshidrataron con concentraciones crecientes de etanol y se secaron en campana de flujo laminar por más de 8 horas para garantizar que las muestras estuviesen libres de humedad. Una vez deshidratadas las muestras se recubrieron con cobre y se observaron en microscopio electrónico de barrido, en donde también se les realizó un análisis de espectroscopía de energía dispersa y mapping.

RESULTADOS

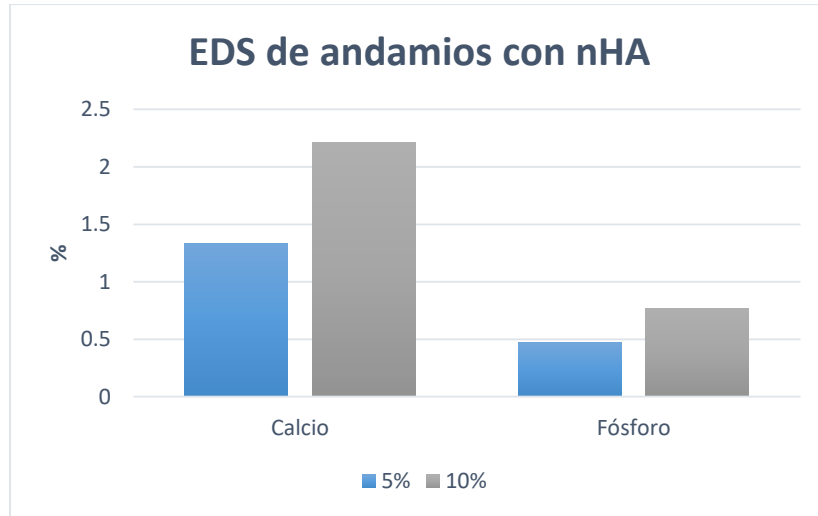
Se obtuvieron andamios de PLA/PCL, PLA/PCL/5%nHA y PLA/PCL/10%nHA de 0.5 cm de alto y 0.9 cm de diámetro aparentemente porosos como se observa en las siguientes imágenes, en las que de izquierda a derecha se encuentra: andamio de PLA/PCL, andamio PLA/PCL/5%nHA y PLA/PCL/10%nH.



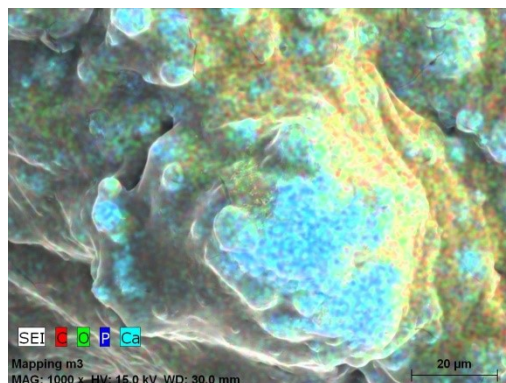
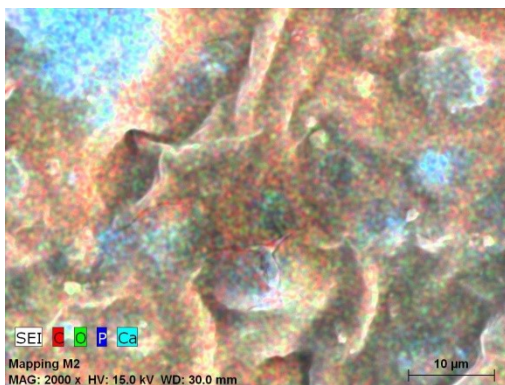
Al microscopio electrónico de barrido se muestran estructuras con poros de tamaños de entre 300 y 400 μm interconectados, con superficie rugosa; estas características son similares para los tres tipos de andamios las cuales quedan plasmadas en las siguientes imágenes: de arriba abajo andamio de PLA/PCL, andamio PLA/PCL/5%nHA y PLA/PCL/10%nH, izquierda 100x, derecha superficie de cada una.



En el análisis de espectroscopia de energía dispersa se puede observar que no hay elementos contaminantes, es decir, el estudio sólo arrojó los elementos característicos del polímero que son carbono y oxígeno, y además calcio y fósforo para aquellas que contienen nanohidroxiapatita. Con este estudio se determinó también que efectivamente los andamios con nanohidroxiapatita tienen diferentes concentraciones, como se puede observar en la gráfica:



Para observar las nanopartículas de hidroxiapatita en las muestras, se realizó un mapping a cada andamio en donde se muestra una distribución homogénea de nanohidroxiapatita. En las imágenes de abajo a la izquierda, andamio con 5% de nHA y a la derecha con 10%.



CONCLUSIONES

Mediante la técnica de disolución y colada con previa fusión de agente porógeno se obtuvieron andamios con poros interconectados, bien distribuidos con tamaño superior a 300 µm que es ideal para una adecuada formación de tejido nuevo y con superficie rugosa excelente para la adhesión celular. Además la técnica permitió una adecuada distribución de las nanopartículas de hidroxiapatita sobre todo el andamio, sin ningún tipo de contaminante. Con esto podemos concluir que la técnica de disolución y colada con previa fusión de agente porógeno es reproducible y por lo

tanto, quedan de esta manera estandarizados los pasos a seguir para sintetizar andamios tridimensionales porosos, con poros de tamaño ideal e interconectados con dicha técnica.

BIBLIOGRAFÍA

1. T. Boonlom, "Bone tissue engineering scaffolding: computer-aided scaffolding techniques", *Progress in biomaterials*, Vol. 3, 2-4, 2014, pp. 61-102.
2. M. Sarada, "Advancement in Scaffolds for Bone Tissue Engineering: A review", *Journal of Pharmacy and Biological Sciences.*, Vol. 10, 2015, pp. 37-54.
3. A. B. José F., "Regeneración ósea a través de la ingeniería de tejidos: una introducción", *RET. Revista de Estudios Transdisciplinarios*, vol. 1, 2, 2009, pp. 98-109.
4. J. Ehsan, "Vascularization of Biomaterials for Bone Tissue Engineering: Current Approaches and Major Challenges", *Current Angiogenesis*, vol. 1, 3, 2012, pp. 180-191.
5. G. N. Enrique, "Análisis del desempeño estructural de andamios de hidroxiapatita utilizados en ingeniería tisular", *Ingeniería mecánica, tecnología y desarrollo*, vol. 4, 5, 2013, pp. 185-194.
6. B. Francesco, "Bioceramics and scaffolds: a winning combination for tissue engineering", *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, vol. 3, 2015, pp. 202.
7. F. Rui, "Electrospun PCL/PLA/HA based nanofibers as scaffold for osteoblast-like cells", *J. Nanosci. Nanotechnol*, Vol. 10, 11, 2010, pp. 7747-7751.

ANÁLISIS DE PARÁMETROS DE CALIDAD Y POLIFENOLES EN MANZANA

Lizbeth Sandra Corona Leo, Ofelia Gabriela Meza Márquez,
Diana Maylet Hernández Martínez.

Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas-Zacatenco. Depto. de Ingeniería Bioquímica. Av. Luis Enrique Erro S/N, Unidad Profesional Adolfo López Mateos, Zacatenco, Delegación Gustavo A. Madero. C.P. 07738. Ciudad de México, D.F.

Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas-Santo Tomás. Depto. de Biofísica. Prolongación de Carpio y Plan de Ayala S/N. Santo Tomas. Delegación Miguel Hidalgo. C.P.11340. Ciudad de México, D.F. omeza@ipn.mx

RESUMEN

En el presente trabajo se hizo un análisis de parámetros de calidad y compuestos bioactivos en 6 variedades de manzana. Se analizó la piel, pulpa y piel-pulpa. Los resultados mostraron variabilidad ($p \leq 0.05$) tanto en los parámetros de calidad como en los compuestos bioactivos. Asimismo, el contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante se distribuye de la siguiente forma: piel > piel-pulpa > pulpa.

INTRODUCCIÓN

Los constantes cambios introducidos en la dieta, han provocado un aumento en la incidencia de enfermedades crónicas no transmisibles, destacando principalmente aquéllas del tipo cardiovascular (principal causa de muerte en países desarrollados) y todas las que derivan como resultado de una mala alimentación tales como la diabetes mellitus, obesidad, hipertensión entre otras (Godoy, 2012).

Se ha estudiado que el consumo de alimentos ricos en compuestos bioactivos reducen algunas de estas enfermedades, debido a la capacidad antioxidante que presentan algunos alimentos (Zucoloto et al., 2015).

La importancia de la manzana se debe a su contenido de compuestos bioactivos que pueden reducir el riesgo de algunas enfermedades crónicas relacionadas con el estrés oxidativo (enfermedad coronaria, infarto cerebral, diabetes, obesidad, algunos cánceres y enfermedades neurodegenerativas). Por ejemplo, Eberhardt et al. (2000) encontraron que las manzanas tienen alta actividad antioxidante e inhiben el crecimiento de células cancerosas humanas in vitro (Zhang et al., 2009). Por ello en el presente trabajo se analizaron los parámetros de calidad (sólidos solubles totales, acidez total y pH) y compuestos bioactivos (fenoles totales, antocianinas, flavonoides y actividad antioxidante) en 6 variedades de manzana.

PARTE EXPERIMENTAL

Materia prima

Se adquirieron cuatro variedades de manzana en madurez comestible en la Central de Abastos de la Ciudad de México. Las variedades de manzana adquiridas fueron las siguientes: Gala (variedad roja), Roja (variedad roja), Golden delicious (variedad amarilla), Granny Smith (variedad verde). Además, con fines comparativos se adquirieron dos variedades de manzana importadas: Red delicious (variedad roja) y Golden delicious (variedad amarilla).

Las manzanas se lavaron con agua corriente y se dejaron secar expuestas al aire. A cada muestra se le asignó un código para identificar el tipo de variedad y la parte analizada: piel (PI), pulpa (PU) y piel-pulpa (PP).

Determinación de parámetros de calidad

Los sólidos solubles totales (SST) se estimaron por determinación directa del jugo de 6 frutos mediante un refractómetro de mano (Norma Oficial Mexicana NMX-FF-060-1993), los resultados se expresaron en % SST. La acidez total se determinó por el método reportado por AOAC (2005), el cual consiste en una titulación de un extracto de la muestra con NaOH 0.01 N, los resultados se expresaron en % de acidez. El pH se determinó potenciométricamente a un extracto de la muestra en agua (1:5) (Zucoloto *et al.*, 2015).

Determinación de compuestos bioactivos

Los fenoles totales se determinaron espectrofotométricamente a 760 nm, se analizó un extracto de la muestra empleando el método de Singleton *et al.* (1999), los resultados se expresaron en mg de ácido gálico equivalentes/100 gramos de peso fresco. Las Antocianinas se determinaron con un espectrofotómetro a 510 y 700 nm, por el método del pH diferencial descrito por Wrolstad (1993), los resultados se expresaron como equivalentes de cianidina-3-glucósido/100 gramos de peso fresco. La capacidad antioxidante se determinó utilizando los métodos espectrofotométricos de ABTS (Moura *et al.*, 2007) y DPPH (Brand-Williams *et al.*, 1995), los resultados se expresaron como μmol equivalentes de trolox/100 gramos de peso fresco.

Análisis estadístico

Los resultados se analizaron estadísticamente en el software Minitab 17.0 realizando un análisis de varianza (ANOVA) de una vía con un nivel de confianza del 95% ($p \leq 0.05$) usando la prueba de Tukey.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos del análisis de las 6 variedades de manzana se muestran en las Tablas I y II, se reportan las medias \pm la desviación estándar de los análisis por triplicado.

Diferentes letras minúsculas indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en piel (PI), pulpa (PU) y piel-pulpa (PP).

Diferentes letras mayúsculas indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre las partes de cada una de las variedades de manzana: Gala (GA), Roja (RO), Golden delicious (GON), Granny Smith (GS), Red delicious importada (REI) y Golden delicious importada (GOI).

Parámetros de calidad

En la tabla I se observa que el mayor porcentaje de los SST se encuentra en la pulpa, seguido por la manzana entera (piel-pulpa) y por último en la piel, independientemente de la variedad. El contenido de SST en pulpa debe ser mayor de 11% en las manzanas con tonalidades rojas y 12% en variedades amarillas y verdes (NMX-FF-061-1993), esto se cumple solo en las variedades Gala y Red (Tabla I) debido posiblemente a cambios en el manejo pos cosecha, lo que genera una disminución de los azúcares en el fruto (Melgarejo *et al.*, 2010).

Respecto a la AT, en la Tabla I se reporta que el mayor porcentaje se encuentra en la pulpa, seguido por la manzana entera (piel-pulpa), y por último en la piel. Las diferencias significativas ($p \leq 0.05$) de AT encontradas entre las variedades se deben al grado de madurez, pues durante la maduración del fruto disminuyen los ácidos orgánicos, aumentan los azúcares y disminuye el pH (Melgarejo *et al.*, 2010), esto concuerda con los resultados obtenidos de pH. Respecto a este último parámetro, en la Tabla I se muestran mayores valores de pH en piel, seguido por la piel-pulpa y por último en la pulpa.

Tabla I. Parámetros de calidad de seis variedades de manzana

Muestra	Código	SST (%)	pH	AT (%)
Gala Piel	GAPI	9.1 ± 0.1 ^{a, A}	3.71 ± 0.01 ^{a, E}	0.15 ± 0.0056 ^{a, B}
Gala pulpa	GAPU	13.5 ± 0.1 ^{b, A}	3.52 ± 0.01 ^{b, C}	0.24 ± 0.0056 ^{b, C}
Gala piel-pulpa	GAPP	12.3 ± 0.1 ^{c, A}	3.69 ± 0.01 ^{c, C}	0.18 ± 0.0056 ^{c, C}
Roja piel	ROPI	6.0 ± 0.2 ^{a, C}	4.23 ± 0.01 ^{a, B}	0.08 ± 0.0056 ^{a, D}
Roja pulpa	ROPU	9.2 ± 0.2 ^{b, D}	3.95 ± 0.01 ^{b, A}	0.14 ± 0.0056 ^{b, D}
Roja piel-pulpa	ROPP	8.6 ± 0.2 ^{c, E}	4.03 ± 0.01 ^{c, D}	0.12 ± 0.0056 ^{c, D}
Granny Smith piel	GSPI	5.9 ± 0.1 ^{a, C}	3.72 ± 0.02 ^{a, D, E}	0.15 ± 0.0056 ^{a, B}
Granny Smith pulpa	GSPU	9.9 ± 0.1 ^{b, C}	3.18 ± 0.02 ^{b, D}	0.42 ± 0.0056 ^{b, A}
Granny Smith piel-pulpa	GSPP	9.2 ± 0.2 ^{c, D}	3.21 ± 0.02 ^{c, D}	0.31 ± 0.0056 ^{c, B}
Golden Nacional piel	GONPI	5.2 ± 0.2 ^{a, D}	3.74 ± 0.02 ^{a, D}	0.21 ± 0.0056 ^{a, A}
Golden Nacional pulpa	GONPU	9.9 ± 0.1 ^{b, C}	3.54 ± 0.03 ^{b, C}	0.37 ± 0.0085 ^{b, B}
Golden Nacional piel-pulpa	GONPP	7.7 ± 0.1 ^{c, F}	3.68 ± 0.02 ^{c, C}	0.35 ± 0.0056 ^{c, A}
Golden Importada piel	GOIPI	7.9 ± 0.1 ^{a, B}	3.84 ± 0.02 ^{a, C}	0.10 ± 0.0056 ^{a, C}
Golden Importada pulpa	GOIPU	10.1 ± 0.1 ^{b, C}	3.66 ± 0.02 ^{b, B}	0.15 ± 0.0056 ^{b, D}
Golden Importada piel-pulpa	GOIPP	9.7 ± 0.1 ^{c, C}	3.76 ± 0.02 ^{c, B}	0.12 ± 0.0056 ^{c, D}
Red Importada piel	REIPI	7.9 ± 0.1 ^{a, B}	4.39 ± 0.01 ^{a, A}	0.04 ± 0.0056 ^{a, E}
Red Importada pulpa	REIPU	11.1 ± 0.1 ^{b, B}	3.93 ± 0.01 ^{b, A}	0.15 ± 0.0074 ^{b, D}
Red Importada piel-pulpa	REIPP	10.2 ± 0.2 ^{c, B}	4.02 ± 0.01 ^{c, A}	0.09 ± 0.0074 ^{c, E}

Compuestos bioactivos

En la Tabla II se reporta que los valores más altos de fenoles totales, antocianinas y capacidad antioxidante (por los métodos ABTS y DPPH) se encontraron en la piel, seguidos por la manzana entera (piel-pulpa) y por último en la pulpa, independientemente de la variedad. El contenido de fenoles encontrados en piel muestra diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en el siguiente orden, a excepción de las pieles de las variedades GA y GS: RO>GA=GS>REI>GON>GOI. La variación en la pulpa fue en el siguiente orden: GS>RO>GA>GON=REI=GOI. Quitral *et al.* (2013) reportaron el contenido de fenoles totales en manzana entera (piel-pulpa) chilena de las variedades Granny Smith, Gala y Fuji, siendo la cantidad de fenoles menor, entre 132-296%, a lo reportado en el presente trabajo.

De la Tabla II se observa que solo se presentaron antocianinas en la piel y en mucho menor cantidad en piel-pulpa de las variedades rojas (RO, GA y REI) y verde (GS) siguiendo el siguiente orden en la piel: ROI>GA>REI>GS. Destaca la variedad RO por tener mayor contenido de antocianinas en piel (18.92 mg de cianidina-3-glucósido/100 g peso fresco) siendo entre 300 y 470% mayor al contenido reportado en las variedades GA y REI, respectivamente, y 567% mayor al de la variedad GS. Otros autores también han reportado la ausencia de antocianinas en pulpa (Kunradi *et al.*, 2009).

La capacidad antioxidante de las manzanas es debida al contenido de polifenoles presentes. Los resultados obtenidos con los métodos de ABTS y DPPH mostraron diferencias significativas

($p \leq 0.05$) en la capacidad antioxidante entre variedades (Tabla II). La capacidad antioxidante también varió dependiendo de la parte del fruto, se obtuvieron mayores valores en la piel, seguido por la manzana entera (piel-pulpa) y por último en la pulpa. La capacidad antioxidante en la piel por el método ABTS varió en el siguiente orden: RO>GA>REI>GOI>GON>GS y en la pulpa varió en el siguiente orden: RE=GON>RO=GA>GS>GOI.

Por el método DPPH, la capacidad antioxidante en la piel varió en el siguiente orden: RO>REI>GA>GS>GOI>GON y en la pulpa varió: RO>REI>GA=GON>GOI>GS.

Kunradi *et al.* (2011) reportaron con ABTS para la variedad Golden valores de 1225.53 y 380.82 $\mu\text{moles ET} / 100 \text{ g}$ peso fresco para piel y pulpa, respectivamente, el valor en piel es 3 y 2.6 veces mayor al reportado en el presente trabajo para la piel de las variedades GON y GOI, respectivamente. Pero con el método DPPH obtuvieron valores de 1004 y 346.44 $\mu\text{moles ET}/100 \text{ g}$ peso fresco para piel y pulpa, respectivamente, estos valores son menores (entre 150 y 269%) a los reportados para la variedad Golden del presente trabajo. Xu *et al.* (2015) reportaron con DPPH para las pieles de Gala y Golden concentraciones de 1787 y 1798 $\mu\text{moles ET}/100 \text{ g}$ peso fresco; y para pulpa de 1616 y 1809 $\mu\text{moles ET}/100 \text{ g}$ peso fresco, respectivamente. Los valores de las variedades mexicanas son menores en un 4-16%.

Tabla II. Compuestos bioactivos analizados en seis variedades de manzana.

Muestra	Código	Fenoles totales (mg EAG/100 g PF)	Antocianinas (EC/100 g PF)	ABTS ($\mu\text{moles ET} / 100 \text{ g PF}$)	DPPH ($\mu\text{moles ET}/100 \text{ g PF}$)
Gala Piel	GAPI	346.53 ± 6.11 ^{a, B}	6.23 ± 0.77 ^{a, B}	509.89 ± 2.40 ^{a, B}	1715.85 ± 4.56 ^{a, C}
Gala pulpa	GAPU	133.20 ± 4.00 ^{b, C}	ND	245.01 ± 3.64 ^{b, B}	939.10 ± 16.48 ^{b, C}
Gala piel-pulpa	GAPP	189.20 ± 8.00 ^{c, C}	0.89 ± 0.39 ^{b, A}	327.45 ± 2.37 ^{c, B}	1022.51 ± 12.04 ^{c, D}
Roja piel	ROPI	447.87 ± 6.11 ^{a, A}	18.92 ± 1.68 ^{a, A}	533.92 ± 4.64 ^{a, A}	2243.01 ± 11.86 ^{a, A}
Roja pulpa	RQPU	177.20 ± 4.00 ^{b, B}	ND	253.00 ± 4.82 ^{b, B}	1417.32 ± 7.74 ^{b, A}
Roja piel-pulpa	RQPP	221.20 ± 4.00 ^{c, B}	1.56 ± 0.39 ^{b, A}	343.34 ± 5.81 ^{c, A}	1713.91 ± 11.82 ^{c, A}
Granny Smith piel	GSPI	354.53 ± 6.11 ^{a, B}	3.34 ± 0.67 ^{a, C}	295.46 ± 2.38 ^{a, F}	1603.06 ± 14.77 ^{a, D}
Granny Smith pulpa	GSPU	257.20 ± 4.00 ^{b, A}	ND	180.10 ± 4.91 ^{b, C}	811.57 ± 21.34 ^{b, E}
Granny Smith piel-pulpa	GSPP	315.87 ± 6.11 ^{c, A}	0.67 ± 0.00 ^{b, A}	215.96 ± 3.58 ^{c, D}	1192.63 ± 8.43 ^{c, B}
Golden Nacional piel	GONPI	239.87 ± 6.11 ^{a, D}	ND	396.29 ± 4.83 ^{a, E}	1507.46 ± 6.94 ^{a, F}
Golden Nacional pulpa	GONPU	121.20 ± 8.00 ^{b, C, D}	ND	294.43 ± 6.13 ^{b, A}	932.66 ± 13.79 ^{b, C}
Golden Nacional piel-pulpa	GONPP	157.20 ± 8.00 ^{c, D}	ND	309.69 ± 3.54 ^{c, C}	1066.00 ± 10.51 ^{c, C}
Golden Importada piel	GOIPI	209.20 ± 4.00 ^{a, E}	ND	469.56 ± 3.61 ^{a, D}	1562.45 ± 8.62 ^{a, E}
Golden Importada pulpa	GOIPU	109.20 ± 4.00 ^{b, D}	ND	118.64 ± 2.37 ^{b, D}	864.39 ± 8.72 ^{b, D}
Golden Importada piel-pulpa	GOIPP	137.20 ± 4.00 ^{c, E}	ND	345.63 ± 5.91 ^{c, A}	924.21 ± 8.71 ^{c, E}
Red Importada piel	REIPI	261.20 ± 4.00 ^{a, C}	4.01 ± 1.34 ^{a, B, C}	488.37 ± 4.65 ^{a, C}	1767.17 ± 14.68 ^{a, B}
Red Importada pulpa	REIPU	117.20 ± 4.00 ^{b, D}	ND	297.50 ± 3.56 ^{b, A}	1090.60 ± 25.45 ^{b, B}
Red Importada piel-pulpa	REIPP	187.87 ± 6.11 ^{c, C}	1.34 ± 0.67 ^{b, A}	342.63 ± 3.58 ^{c, A}	1729.73 ± 17.97 ^{a, A}

CONCLUSIONES

- Se encontró variabilidad ($p \leq 0.05$) tanto en los parámetros de calidad como en los compuestos bioactivos de la piel, pulpa y piel-pulpa, independiente de la variedad analizada.
- El contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante se distribuye en orden ascendente en piel>piel-pulpa>pulpa.
- El contenido de SST en la piel y pulpa de la variedad Gala es mayor que las variedades importadas
- La AT en la piel y pulpa de la variedad Roja es menor al igual que las variedades importadas
- El pH en la piel y pulpa de la variedad Roja es mayor y es estadísticamente igual a la Red Importada
- La variedad de manzana Roja (RO) es la que presenta mayor concentración de fenoles totales, antocianinas y capacidad antioxidante.
- Los resultados del PCA demuestran que las diferentes variedades pueden ser diferenciadas en grupos en función de sus parámetros de calidad o alta capacidad antioxidante.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bouayed, J., Hoffmann, L., Bohn, T. (2011). Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food Chem.* 128:14-21.
2. Eberhardt, M., Chang, Y. and Rui H. (2000). Nutrition: Antioxidant activity of fresh apples. *J. Food Sci.* 405:903-904.
3. Melgarejo, M. and Hernández, S. (2010) Experimentos en fisiología vegetal. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. <http://www.bdigital.unal.edu.co/8545/#sthash.rsz9YKY2.dpuf> Acceso: Diciembre 2016
4. NMX-FF-061-2003. Especificaciones fruta fresca manzana (*Malus pumila* Mill). Diario Oficial de la Federación, 10 de Febrero de 2003. Ciudad de México.

EFFECTO DE LA NIXTAMALIZACIÓN CON MICROONDAS Y LA ADICIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS EN COMPUESTOS BIOACTIVOS DE LA TORTILLA DE MAIZ AZUL

Paola González Nieto, Virginia Ortiz Marquez, Mayvi Alvarado Olivarez, Jose Luis Chávez Servia y Rosa Isela Guzmán Gerónimo.

Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Veracruzana
Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana
CIIDIR-Unidad Oaxaca, Instituto Politécnico Nacional

RESUMEN

Las tortillas de maíz azul representan una fuente importante de antocianinas, compuestos fenólicos que poseen propiedades antioxidantes. Se ha reportado que la nixtamalización del grano de maíz disminuye el contenido de estos compuestos bioactivos en la tortilla. En el presente trabajo se busca retener mayor cantidad de las antocianinas con el uso de microondas más la adición de ácidos orgánicos en la nixtamalización. El grano de maíz azul de la raza Mixteco adicionado con ácido cítrico o ácido gálico fue nixtamalizado en forma tradicional o empleando un horno de microondas, se molió y la masa obtenida fue empleada para elaborar tortillas. Posteriormente, 1 g de tortilla de maíz azul fue extraído con etanol acidificado con ácido cítrico 1 M y se evaluó el contenido de polifenoles totales y antocianinas monoméricas. El nivel de agrado de las tortillas en cuanto al sabor fue evaluado mediante una prueba hedónica. La mayor retención de polifenoles totales (43%) y antocianinas monoméricas (84%) se observó en la tortilla elaborada con el grano de maíz azul nixtamalizado con microondas y adicionado con ácido gálico en comparación con las tortillas elaboradas con grano de maíz azul nixtamalizado de manera tradicional. El empleo de ácido cítrico y microondas para la nixtamalización incrementó en la tortilla un 33 y 69% el contenido de polifenoles totales y antocianinas, respectivamente. La prueba sensorial mostró que la tortilla nixtamalizada por microondas y adicionada con ácido gálico tuvo el mayor nivel de agrado en cuanto al sabor.

Palabras clave: Nixtamalización, microondas, antocianinas, ácidos orgánicos.

INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es el cereal básico en la dieta de los mexicanos. En promedio un mexicano consume diariamente 335g de maíz [1]. La diversidad de razas de maíz que existen a lo largo del país, son el resultado del trabajo de los agricultores mexicanos a través de los siglos. Estos maíces nativos tienen una gran variedad en el color del grano. Los maíces azules nativos representan una importante fuente de compuestos bioactivos, en particular de antocianinas, compuestos que además de otorgar el color característico a estos maíces, poseen diversas propiedades biológicas ante enfermedades crónico-degenerativas como diabetes y cáncer.

Al igual que los maíces amarillos y blancos, los maíces azules son empleados para la elaboración de tortillas, en donde el grano es sometido al proceso de nixtamalización, tratamiento térmico-alcalino, que afecta la estabilidad de las antocianinas. Debido a lo anterior es importante explorar la aplicación de tecnologías como las microondas, que se caracterizan por aplicar alta temperatura en corto tiempo lo que permite mantener en mayor grado el contenido de compuestos bioactivos como las antocianinas [2] y con ello mejorar su actividad biológica. Aunado a lo anterior, estudios previos realizados por nuestro grupo de investigación indican que el empleo de ácidos orgánicos como el ácido cítrico mantienen en mayor grado las antocianinas [3], de igual manera el uso de ácido gálico. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la nixtamalización con microondas y la adición de ácidos orgánicos en compuestos bioactivos de la tortilla de maíz azul.

MARCO TEORICO

La palabra maíz significa literalmente “lo que sustenta la vida”, junto con el trigo y el arroz es uno de los cereales más importantes del mundo, suministra elementos nutritivos a los seres humanos y a los animales, tiene aproximadamente una antigüedad de 7000 años en América Central [1]. El grano está conformado por cuatro estructuras físicas fundamentales: el pericarpio, cáscara, o salvado, el endospermo y el germen [4-5].

Dentro de los usos más comunes que se le da al maíz, está la elaboración de la tortilla en el cual para obtenerla se tiene que llevar a cabo la nixtamalización, en el cual el maíz se cuece con cal, se lava con agua para eliminar el exceso de hidróxido de calcio, posteriormente es pasado al molino para la obtención de la masa, la cual es utilizada para la elaboración de las tortillas.

Sin embargo, durante el proceso de nixtamalización se han reportado pérdidas de antocianinas de hasta 75 %, debido a que este proceso afecta la estabilidad de las antocianinas. Para entender la importancia de estos compuestos es importante saber que son pigmentos hidrosolubles que proporcionan colores desde rojos hasta azules, son una subclase de flavonoides que se caracterizan por sus efectos a la salud [6]. Químicamente hablando son los glucósidos de las antocianidinas, la aglicona a la que se le une un azúcar mediante un enlace glucosídico. Sin embargo, la estabilidad de estos compuestos puede ser afectada por la nixtamalización debido a que el maíz es sometido a condiciones de calor (80 a 105 °C) y un pH elevado (11 a 12), es por ello que hay gran pérdida de estos compuestos. Por lo que siendo un alimento básico, es importante se busquen alternativas para minimizar su degradación durante el proceso de elaboración de las tortillas como lo es la incorporación de un ácido orgánico como el ácido cítrico o gálico. Diversos reportes hacen mención que estos ácidos ayudan a la retención de las antocianinas durante el procesamiento de alimentos [7].

Otra manera de mantener mayor cantidad de compuestos bioactivos en los alimentos, es el uso del microondas, tecnología que tiene varias aplicaciones en el procesamiento de alimentos, entre las que destacan: secado, pasteurización, esterilización, descongelación, etc. Debido al sistema de funcionamiento del microondas donde la penetración del calor es más rápida en un corto tiempo, causando menos daño a las propiedades fisicoquímicas y nutricionales del alimento [8], se puede favorecer a la retención de las antocianinas. Es así que en este trabajo se exploró el potencial de aplicación de las microondas en la nixtamalización de granos de maíz azul.

PARTE EXPERIMENTAL

Materia prima

Los granos de maíz azul de la raza mixteco fueron proporcionados por el CIIDIR-IPN unidad Oaxaca.

Nixtamalización tradicional del grano de maíz azul

Para el proceso de nixtamalización se emplearon 100 g de maíz en 350 mL de agua y 1 % de hidróxido de calcio. El tiempo de nixtamalización fue de 35 minutos a 90 °C. Después de un reposo de 16 horas, el nixtamal se enjuagó tres veces con 1L cada vez de agua purificada. Una vez nixtamalizado, se añadieron 40 mL de agua por 200 g de maíz para obtener una masa fresca y después molerse en un molino manual [9].

Nixtamalización con microondas

Los granos de maíz (100 g) se colocaron en un recipiente de vidrio con 200 mL de agua y 1 % de hidróxido de calcio, y se calentó en un horno de microondas marca Panasonic durante 7 min a un nivel 8. Posteriormente se enjuagó y se empleó una concentración de hidróxido de calcio de 1.0 %, para posteriormente introducirlo al microondas y llevar a cabo la nixtamalización. Después de un reposo de 16 hrs, el nixtamal se enjuagó tres veces con 1L de agua purificada. Una vez nixtamalizado, se añadió 40 mL de agua purificada por 200 g de maíz para obtener una masa fresca y después molerse en un molino manual.

Adición de ácidos orgánicos

Previo a la nixtamalización tradicional ó con microondas, los granos de maíz azul se reposaron en una solución de ácido cítrico ó ácido gálico al 1%.

Elaboración de la tortilla a partir de maíz azul

Para la elaboración de cada tortilla se empleó una prensa doméstica. Las tortillas se obtuvieron con un espesor de 1 ± 0.5 mm, 12 ± 0.5 cm de diámetro y 17.5 ± 0.5 g de peso. Los discos de masa fueron cocidos al calor de una plancha a $240 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 35 s por el lado A, seguido de 65s en lado B, y 30 segundos nuevamente por el lado A. Las tortillas se evaluaron después de enfriar durante 30 minutos a temperatura ambiente [9].

Preparación del extracto de tortilla de maíz azul

Se pesó 1g de tortilla, se le adicionaron 10 mL de etanol acidificado con ácido cítrico 1M (85:15 v:v) para su extracción, se procesaron con un homogenizador ultrasónico marca Cole-Palmer, modelo VCX-750 por 30 minutos a 40 % de amplitud, pulso 05:05 a 25°C . Posteriormente, los extractos se dejaron en reposo de 24 h a una temperatura de 4°C , seguido de centrifugación a 4000 rpm por 20 minutos a una temperatura de 5°C [9].

Cuantificación de polifenoles totales

Para cuantificar el contenido de polifenoles totales se utilizó la técnica de Folin y Ciocalteu [10]. Se preparó una curva de calibración utilizando ácido gálico (12 mg/100 mL) y se expresó como mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 g de muestra. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

Análisis de antocianinas monoméricas

El contenido de antocianinas monoméricas fue evaluado usando el método diferencial de pH diferencial [11]. En el cual se requirió de un buffer de cloruro de potasio a pH1.0, y otro de acetato de sodio a pH 4.5. Las muestras se dejaron en reposo por 15 minutos y se llevó a cabo la lectura de la absorbancia a 515 nm. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado. El contenido de antocianinas monoméricas se expresó como mg de cianidin 3-glucósido/100 g, se utilizó el coeficiente de extinción molar de $26,900 \text{ L cm}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ y un peso molecular de 449.2 g/mol.

Prueba sensorial

Con base al ácido orgánico que permitió mantener en mayor grado el contenido de compuestos bioactivos en la tortilla, se seleccionaron estas condiciones para elaborar la tortilla a partir de los granos nixtamalizados en forma convencional y con microondas y ser evaluada sensorialmente. Se empleó una prueba hedónica de 7 puntos [12]. La prueba se realizó también las tortillas en donde se empleó el proceso de nixtamalización tradicional ó con microondas son adición del ácido.

RESULTADOS

Las tortillas fueron sometidas a diferentes procesos de nixtamalización y/o adicionadas con ácido cítrico (Fig. 1) en las cuales se analizó la cantidad de polifenoles totales y antocianinas (Cuadro1). Se puede observar que la tortilla elaborada con granos de maíz azul nixtamalizados en forma tradicional mostró un incremento del 18% y 28% de polifenoles totales y antocianinas, respectivamente en comparación con la tortilla elaborada a partir de granos azules nixtamalizados en forma convencional sin adición de ácido.

Por su parte, al evaluar el efecto de la nixtamalización por microondas y adición ácido cítrico se observó un incremento del 12% y 8% de polifenoles totales y antocianinas, respectivamente; en comparación con la tortilla elaborada a partir de granos azules nixtamalizados con microondas sin adición de ácido.

Por otro lado, el mayor contenido de antocianinas monoméricas se encontró en la tortilla en cuyo procesamiento se emplearon microondas con ó sin adición de ácido cítrico, mientras que el menor valor correspondió a la tortilla elaborada en forma tradicional.

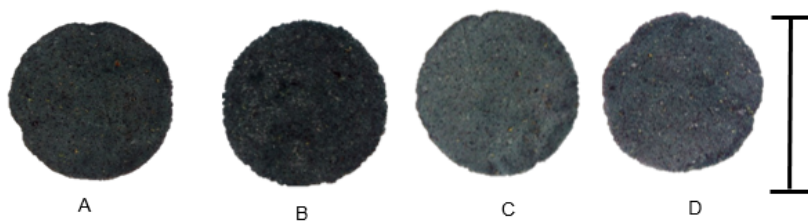


Figura 1. Tipos de nixtamalización: A) Tradicional con ácido, B) Tradicional sin ácido, C) Microondas con ácido, D) Microondas sin ácido. Escala: 12±0.5 de diámetro.

Cuadro 1. Contenido de polifenoles y antocianinas con y sin ácido cítrico.

Tipo de Nixtamalización		Polifenoles totales mg Eq de ácido gálico/100 g	AT (mgC3G/100g)
Tradicional ácido	con	329.53± .03	42.47±1.18
Tradicional ácido	sin	278.33± .01	33.60± 5.46
Microondas ácido	con	369.16± .07	56.98± 2.65
Microondas ácido	sin	357.68± .02	52.28± 3.54

En las tortillas sometidas a los diferentes procesos de nixtamalización y/o adicionada con ácido gálico (Fig.2) se analizó la cantidad de polifenoles y antocianinas (Cuadro 2). La mayor concentración de polifenoles totales y antocianinas se observó en las tortillas elaboradas a partir de granos de maíz azul nixtamalizados con microondas con y sin adición de ácido gálico, lo cual sugiere que el calentamiento con microondas permite mantener en mayor grado estos compuestos.

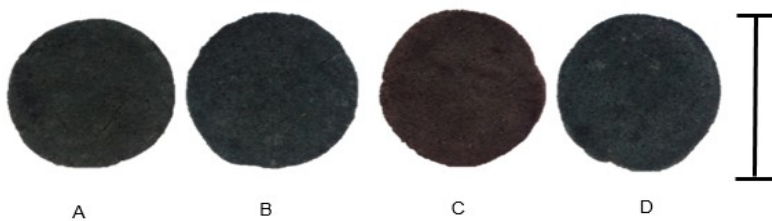


Figura 2. Tipos de nixtamalización: A) Tradicional con ácido, B) Tradicional sin ácido, C) Microondas con ácido, D) Microondas sin ácido. Escala: 12±0.5 de diámetro

Cuadro 2. Contenido de polifenoles y antocianinas en la tortilla nixtamalizada con y sin ácido gálico

Tipo de Nixtamalización		Polifenoles totales mg Eq de ácido gálico/100 g	AT (mgC3G/100g)
Tradicional	con ácido	399.47 ± .02	49.57 ± .27
Tradicional	sin ácido	333.64 ± .07	33.60 ± 5.46
Microondas	con ácido	479.79± .06	61.02± 1.83
Microondas	sin ácido	450.31± .08	53.05± 1.42

De acuerdo con los resultados de los análisis químicos, la nixtamalización por microondas adicionada con ácido gálico fue quien obtuvo mejor retención de los compuestos bioactivos de la tortilla de maíz azul fue seleccionada para ser evaluada sensorialmente. En cuanto al parámetro de color, los panelistas indicaron que la tortilla en cuyo procesamiento se empleó la nixtamalización por microondas fue la que tuvo el mayor nivel de agrado en comparación con las tortillas en donde se empleó la nixtamalización tradicional con ó sin adición de ácido gálico para su elaboración. En relación al sabor, los jueces mencionaron tener mayor agrado por la tortilla obtenida de granos de maíz azul nixtamalizado por microondas y adicionada con ácido. Por último en el resultado del parámetro de la textura, los jueces mencionaron tener mayor agrado por la tortilla elaborada con granos de maíz azul nixtamalizados en forma tradicional sin ácido.

CONCLUSIONES

El empleo de las microondas para nixtamalizar el maíz azul permitió mantener en mayor medida el contenido de polifenoles y antocianinas en comparación con el proceso tradicional de nixtamalización. La adición de ácido gálico y de ácido cítrico favoreció una mayor retención de polifenoles totales y antocianinas monomérica en las tortillas elaboradas a partir de granos nixtamalizados en forma tradicional ó con microondas. Las tortillas elaboradas a partir de granos de maíz azul nixtamalizado con microondas y con adición de ácido gálico mostró el mayor contenido de compuestos bioativos. La prueba sensorial indica que el mayor nivel de agrado en cuanto al sabor corresponde a la tortilla elaborada con nixtamalización por microondas adicionada con ácido gálico. Lo anterior sugiere el potencial de aplicación de las microondas y ácidos orgánicos en el proceso de nixtamalización para obtener tortillas con mayor contenido de compuestos bioactivos.

BIBLIOGRAFÍA

1. FAO. El maíz en la nutrición humana. Colección FAO: Alimentación y nutrición, 1993. pp. 25: 24-67.
2. L. Dorantes-Alvarez, A. Ortiz-Moreno, R.I. Guzmán-Gerónimo, L. Parada-Dorantes, In *The Microwave Processing of Foods*. Regier M, Knoerzer K, Schubert H. (Eds.). Editorial Elsevier, 2016. pp. 179-199.
3. M. Herrera-Sotero. Aplicación de tecnologías emergentes para la obtención de jugo de zarzamora con alto contenido de compuestos bioactivos. 2011. Tesis de maestría. Universidad Veracruzana.
4. M.J Wolf, C.L. Buzan, M.M. MacMasters, C.E. Rist, Structure of the matare corn kernel. *Cereal Chem.* Vol. 29, 1952, pp. 321-382.

5. M.J. Wolf, V. Khoo, H.L. Seckinger, Distribution and subcellular structure of endosperm protein in varieties of ordinary and high-lysine maize. *Cereal Chem.* Vol.46, 1969, pp. 253-263.
6. S. Badui. *Química de los alimentos*. 5ª ed. (Editorial Alhambra. México, D.F., 2013) pp.399.C.
7. L.T Dao, G.R. Takeoka, R.H. Edwards, J.D.J. Berrios Improved method for the stabilization of anthocyanidins. *J. Agric. Food Chem.*, Vol.46, 1998, pp.3564-3569.
8. S. Chandrasekaran, S. Ramanathan , T. Basak. "Microwave food processing". *Food Research International*. Vol 52, 2013, pp. 243-261.
9. E. A. Alarcón. *Polifenoles, antocianinas, actividad antioxidante y actividad biológica de tortilla y grano de maíz azul de la raza Mixteco*. 2013. Tesis doctoral. Universidad Veracruzana.
10. O. Folin, V. Ciocalteau, Tyrosine and tryptophan determination on proteins. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol 73, 1927, pp. 627-650.
11. M. M. Giusti, R. E. Wrolstad, In: *Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy*. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. New Jersey, 2001.F1.2.1 F1.2.13.
12. D.L Pedrero, R.M. Pangborn, *Evaluación sensorial de los alimentos. Métodos. Analíticos*. Editorial Alhambra Mexicana., D. F. México, 1989.

CAPACITACION CAMPESINA EN SUELO DE CONSERVACION DE LA CIUDAD DE MEXICO.

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

Universidad Autónoma Metropolitana -Xochimilco

RESUMEN

La importancia ecológica-ambiental del Suelo de Conservación de la Ciudad de México radica en poder captar agua de lluvia para el acuífero que mantiene la vitalidad de la Cuenca de México, al tiempo que es sostén del modo de vida campesino de antiguos pobladores de tradición rural que cultivan amaranto, olivo, maíz, flores y productos forestales, sin embargo, este sistema eco-productivo está en riesgo. El objetivo de la investigación consistió en diseñar un instrumento educativo significativo para el campesinado basado en sus representaciones sociales, en conjunto con la teoría del Desarrollo Sustentable y la ecología política. Lejos de llevar al campo teorías abstractas, aplicamos con ellos, una herramienta didáctica-demostrativa que fomente la sensibilización del campesinado a adoptar prácticas agroecológicas y lograr frenar los procesos de erosión del suelo, la pérdida de la fertilidad en sus predios, aumentar la humedad, cosechar agua y obtener productos de alto valor agregado. Con estos fines realizamos un conjunto de talleres grupales mediante técnicas participativas basadas en la agroecología capacitando a 90 campesinos al cabo de 6 meses aplicamos un instrumento de corte cualitativo – participativo y observación directa en campo que permita evaluar los posibles aprendizajes sobre el manejo y conservación de recursos naturales, adoptadas como prácticas campesinas que logren incidir en el diseño de políticas públicas ambientales, y a la vez mejorar nuestra práctica docente en vinculación con sectores marginados de la educación formal. Se concluye que los diferentes actores involucrados contienen un alto potencial político basado en el modo de vida rural, altamente sensibles al tema del agua (líquida, potable y subterránea) que les permite asumir nuevos aprendizajes.

INTRODUCCIÓN

El contexto político-ideológico y económico en acciones encaminadas al desarrollo rural ha cambiado radicalmente en los últimos treinta años, en especial para aquellas regiones localizadas en la periferia de las grandes ciudades. La convergencia de viejos problemas y nuevas realidades agudizan antiguas problemáticas rurales tales como la pobreza, la desnutrición, el analfabetismo, desocupación, al tiempo que se ven incrementadas por problemas de corte urbano como contaminación ambiental, la degradación de recursos naturales, el aumento de plagas, el crecimiento urbano sin planificación.

Esta problemática no es ajena para quienes habitan en el área conocida como Suelo de Conservación en la Ciudad de México, la importancia ecológica de este espacio consiste en ser el mayor captador de agua para el abastecimiento urbano. La importancia biológica radica en mantener el 2% de la biodiversidad mundial con un alto número de especies endémicas sobretodo de mamíferos. La importancia social - cultural de los pueblos que ahí viven es que se trata herederos campesinos de ocupación de estos territorios en una relación más estrecha a la naturaleza. Sin embargo, superar la pobreza, mantener los espacios vitales, crear oportunidades en el ingreso, de sustentabilidad y el bienestar no es en tiempos actuales una tarea fácil. Superar los desafíos agropecuarios en el área rural de la Ciudad de México en materia de Prestación de Servicios Ambientales y generación de alimentos como hortalizas, nopalitos, amaranto, requiere fortalecer su sector campesino, sobre todo por la prevalencia de modelos de intervención ajenos a ellos. En este espacio convergen dos modelos uno asociado a las agencias de desarrollo de la ONU y el otro basado en la resistencia comunitaria del propio campesinado, aquí se exponen:

TEORIA

El modelo teórico de intervención de desarrollo rural impulsado por las Agencias de desarrollo como el BID, el Banco Mundial, la OCDE, son retomadas como ejes políticos y aplicados como programas agropecuarios por parte de los gobiernos locales, consiste en inyectar dinero fresco a los hogares pobres para fortalecer el Capital Financiero (dinero) lo cual impactaría por “salpicadura” sobre el Capital Natural (bosques, tierras), Capital Físico (maquinaria, infraestructura), Capital Humano (salud, educación) y Capital Social (redes, organizaciones). El Contexto Económico vigente se encuentra determinado por el Libre Mercado y un Estado menos interventor. Bajo este modelo, las estrategias familiares de los hogares rurales oscilan entre la pluriactividad, la vía agrícola, la migración y el asistencialismo. En este modelo la inyección de dinero fresco crea una fuerte dependencia del campesinado hacia las agencias promotoras y no genera desarrollo, al tiempo que los recursos naturales no son conservados. El otro modelo alternativo como eje constructor de la política social edificado desde las bases campesinas tiene su sustento en la resistencia y adaptación del campesinado como forma de sustento, ello implica revalorar las actividades agrícolas más allá de la prestación de servicios ambientales, al tiempo de fortalecer las capacidades productivas del sector, tarea insoslayable que recae en la capacitación y educación no formal. Impulsar un modelo educativo de intervención el medio rural requiere adoptar medidas agroecológicas de carácter endógeno, es decir basado en el modo de vida campesino que no resulte ajeno y sea adoptado como forma de sustento.

OBJETIVO

Diseño e instrumentación de un recurso didáctico con y para campesinos que permita conciliar saberes comunitarios con conocimientos académicos que potencie los factores endógenos y propicie un cambio hacia la Agroecología.

PARTE EXPERIMENTAL

La propuesta metodológica tiene su sustento en la práctica pedagógica que Paulo Freire desarrollo a lo largo de su vida, resumida aquí en tres momentos: acción diagnostica, reflexión y nuevamente acción que incorpora la experiencia y conocimientos de los dos primeros momentos. El instrumento didáctico está basado en Henao, Altieri y Nicholls (2015) modificado por nosotros. Se instrumentaron talleres demostrativos de elaboración de abonos orgánicos en las parcelas de los participantes, con el compromiso de replicar la práctica en sus milpas. Al cabo de seis meses diseñamos un instrumento de corte cualitativo que nos permita tener indicadores sobre la práctica adoptada por los campesinos. Se muestra a continuación en la tabla 1.

Tabla 1. Instrumento didáctico de observación					
Indicadores, unidades de observación y análisis					
Variable	Indicador	Unidad de observación	Unidad de análisis	Adopción de la práctica	Mejoras en cultivo
Capacidad de resistencia, adopción e innovación a cambios sociales y ambientales	<i>Conservación:</i> Bosque Suelo Fuentes de agua Aire <i>Protección a:</i> Especies vegetales Animales silvestres	Campesino en el contexto urbano	Comunidad campesina	Si No	Si No

Tomado de Angeles J.P. 2011. Resiliencia socio-ambiental en San Ildefonso Chantepec, Reporte de estancia predoctoral, CIIEMAD-IPN-UACH.

RESULTADOS

Durante la realización de los talleres (sensibilización – diagnóstico) los participantes manifestaron ha habido cambios importantes en el clima regional caracterizado por aumento de temperatura, heladas, vientos más fuertes, al tiempo que ha disminuido el patrón de lluvias, ha aumentado la sequía. En términos generales manifestaron que ha habido un aumento de plagas en especial ratas, pericos domésticos, animales ponzoñosos como serpientes, alacranes y araña viuda negra. Ha aumentado la cantidad de sitios susceptibles a erosión pluvial lo cual reduce la productividad de sus predios. Del total de participantes solamente un 5% manifestó realizar prácticas de manejo de suelos, manejo de plagas y enfermedades (con productos químicos) y hubo solo dos casos de manejo de agua mediante obras de conservación de suelo y agua. El total de participantes afirmaron ha disminuido el número de instituciones y organizaciones que brinden apoyo al campesino.

Se formaron equipos de trabajo y realizaron mapas de su comunidad, allí identificaron problemáticas relacionadas al suelo, a los recursos edáficos, la humedad, las plagas. Durante la exposición de sus mapas resaltaron el abandono y el nulo asesoramiento por parte de las instancias gubernamentales. Esto permitió realizar una reflexión sobre la situación vivida en el campo y a la postre realizar un planteamiento de soluciones a dicha problemática.

Se realizaron tres prácticas demostrativas una en Tulyehualco (Tlahuac), otra en San Bernabé (Magdalena Contreras) y la tercera San Pedro Atocpan (Milpa Alta) en todos los eventos hubo una participación activa del total de los participantes. De ahí surge el compromiso de replicar la experiencia.

Respuestas al instrumento fueron las siguientes: se aplicó en forma colectiva con Epifanio Ávila, Benito Ramos, Guadalupe Hesiquio, Carlos Díaz, Margarito Santos y Fernando García. Recuperamos los siguientes testimonios

“El curso-taller de agricultura agroecológica lo tomamos ya casi finalizando el ciclo productivo del ejercicio pasado, por lo que en mi caso todavía no hemos tenido la oportunidad de aplicar completamente lo aprendido en el curso.”

- los abonos Bocashi, Agroplus, lo están elaborando? “Los dos abonos los vamos a elaborar para su aplicación en el presente ciclo productivo, de hecho, el abono bocashi ya lo preparamos y se aplicó en el ejercicio pasado, yo estoy convencido de su excelente resultado, ya que disminuye los costos en el cultivo y mejora la calidad del producto”.

-ha aumentado el rendimiento en la parcela? “El Área donde aplicamos bocashi en el ejercicio pasado si hubo buenos resultados, ya que los beneficios fueron la reducción de costos y mejoría en la calidad del producto, sin embargo, de acuerdo a extensionistas de Sagarpa debí haber aplicado el abono en dos ocasiones, lo cual voy a realizar el presente ciclo de producción.”

ha aumentado la humedad?

“Todavía no puedo comprobar esta situación, ya que aún no inicia el ciclo productivo, estamos en el proceso inicial de preparación de la tierra, sin embargo, si he estoy realizando lo aprendido en el curso, estoy aplicando abono de res y maleza picada para que el terreno se encuentre poroso cuando lleguen las lluvias, que falta poco para que lleguen”. (Epifanio, Benito, Fernando)

ha aumentado la calidad de las semillas? “Esta pregunta la respondería al finalizar el ciclo productivo de este año, sin embargo, estoy convencido de que así será.”

¿Has compartido con tus compañeros campesinos dichos aprendizajes?

“Pero por supuesto que, sí he compartido lo aprendido en el curso, principalmente he tratado de concientizar a varios compañeros de la importancia que tiene la producción con métodos orgánicos”.

-nos recomendarías con otros campesinos? “Claro que si los recomendaría con otros campesinos.

En el caso de la nochebuena si hubo un incremento notable, sin embargo, aún se utilizan muchos productos químicos.”

DISCUSION

El suelo de conservación de la Ciudad de México ocupa un 59% de su superficie, una las primeras áreas de conservación protegida se promulgaron en el año de 1932, fue El Desierto de los Leones, otras son de reciente incorporación como los humedales de Xochimilco. Es un amplio territorio con diversos ecosistemas, diversas formas de tenencia de la tierra (privada, comunal, ejidal). Algunos pueblos poseen títulos primordiales otorgados por los reyes españoles (Carlos I). La problemática que enfrentan sus pobladores van desde la tala clandestina, la invasión y lotificación de áreas para viviendas irregulares, el impacto de visitantes ciudadanos que tiran basura, escándalos, así como el comercio informal. El despojo de bienes naturales (tierras, bosques, aguas) es una constante desde la época colonial, empero, la posesión de tierra mediante bienes comunales y ejidales ha generado un litigio interminable aprovechado por políticos para la obtención de curules. Al ser área protegida el uso se encuentra restringido a la prestación de servicios ambientales y la agricultura, pero no todos los campesinos son beneficiarios de estos programas. Tampoco hay una relación asociada a la problemática netamente urbana como la contaminación atmosférica, el estrés hídrico y los residuos sólidos. Si bien existen programas como Plan Verde y Acción estratégica frente al Cambio Climático en materia de políticas públicas desde las organizaciones que habitan el suelo de conservación aún hay grandes desafíos por superar pues cada día se pierden un aproximado de 250 has.

CONCLUSIONES

Para los campesinos del sur de la Ciudad de México la capacidad de adaptación, innovación, se ha convertido en una necesidad imperante, muchos de ellos tienen una alta sensibilidad al tema del avance de la mancha urbana, se trata de pueblos viejos con historias milenarias y despojos permanente de tierra, agua, biodiversidad dados en tributo al Gran Capital destinado a actividades no agrícolas. Estos pueblos cuentan con una larga historia de defensa y lucha comunitaria por mantener sus manantiales, sus pocos ríos vivos como acción ambiental que confronta directamente los actuales procesos de globalización. Brindar herramientas desde la agroecología a estos pueblos puede ayudar a revertir el avance de la mancha urbana y generar productos con valor agregado al tiempo que se fortalece una cultura campesina.

BIBLIOGRAFIA

1. Altieri, M.A. Agroecología, teoría y práctica para una agricultura sustentable. (UACH. México.) pp 17-51
2. Banco Interamericano de Desarrollo, El Desarrollo de las economías rurales. 2001. Pp 1-36
3. Henao S, A, Altieri, M.A. Nicholls, E.C. Herramienta didáctica para la planificación de fincas resilientes. SOCLA, REDAGRES. 2015.

PRODUCCION DE HORTALIZAS ORGANICAS EN ATOTONILCO DE TULA, HIDALGO.

Pedro Angeles Juárez, Minerva Leonor González Ibarra, Aida del Rosario Malpica Sánchez.

Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco

RESUMEN

La vinculación Universidad-Sociedad y su relación con el curriculum exigen para la universidad pública, dar respuesta a necesidades inmediatas sentidas por la sociedad, al tiempo que brinde conocimientos significativos al alumnado. En el módulo Energía y Consumo de Sustancias Fundamentales en la UAM-Xochimilco, diseñamos una investigación formativa que la vez permita el abordaje de contenidos académicos desde una perspectiva constructivista. Retomamos los postulados de la participación-acción (intervención) e indagamos los resultados de la Política Social que hacia las comunidades campesinas emite el Estado Mexicano. Mediante el uso de herramientas de la investigación cualitativa como entrevistas, observación participante y el estudio de caso analizamos Cuayuca un pequeño poblado en Atotonilco de Tula, entre los resultados se presenta una comunidad con pobreza media (por el trabajo industrial y de servicios) carente de recursos en tierra, agua y apoyo gubernamental para la producción de alimentos, no autosuficiente. Sin embargo, implementar eco-tecnologías basadas en la re-utilización, el reciclaje de objetos tirados a la basura no siempre brinda las expectativas esperadas. Se sembraron hortalizas en llantas y botes, se elaboraron abonos tipo composta y bocashi, como parte del extensionismo universitario, se brindó capacitación a amas de casa, empero, la práctica no fue adoptada por las personas de la comunidad en especial por el grupo de mujeres que son encargadas de brindar alimento a sus familias, pues dicha praxis no conforma parte del habitus de reproducción doméstica. Se concluye que acercar a los jóvenes universitarios a la problemática social, ambiental y económica del país en tiempos de crisis no es tarea fácil y proponer soluciones desde una posible práctica profesional es una tarea impostergable desde el quehacer académico.

INTRODUCCION

Ante la crisis generalizada (alimentaria, energética, hídrica, ecológica) que incide de sobre manera en los sistemas de producción de alimentos, en los diez últimos años se han venido implementando programas de producción casera con una fuerte inversión estatal. Los huertos familiares son sistemas agrícolas de alta complejidad en donde se manejan intensamente cultivos asociados que pueden ocupar altas densidades aprovechando un sistema de múltiple estrato. Esta alta diversidad biológica combina cultivo de árboles, arbustos, hierbas con la cría de animales (gallinas, borros, conejos) son sitios clave para la innovación y conservación de variedades de cultivos y técnicas de manejo. Los productos que se obtienen son destinados a cubrir las necesidades básicas de las familias rurales, en caso de que existe algún excedente es destinado primeramente al intercambio por algún producto y al mercado. En este sistema nada se desperdicia pues los desechos de los animales o la hojarasca es aprovechada para la elaboración de abonos y para el mejoramiento de suelos. Este tipo de sistemas agroecológicos constituyen un importante modelo didáctico para los alumnos de la universidad pues por un lado permite abordar contenidos relacionados con el ciclo de la transformación de la materia y los flujos de energía, al tiempo que permite cumplir con los objetivos de la enseñanza, destinadas a que el alumnado adquiera habilidades lógicas y sus operaciones, esto es: analizar, sintetizar, comparar, abstraer, generalizar, determinar, definir, clasificar, identificar, ordenar, caracterizar, observar, interpretar, valorar y predecir. Formar formadores es una tarea de la universidad pública en los actuales tiempos de crisis.

OBJETIVO

Implementar sistemas agroecológicos en comunidades rurales encaminadas a realizar acciones a favor de la sustentabilidad, utilizando un sistema de 3R, (reduce, recicla, recupera) como parte de una educación ambiental formativa tanto para los alumnos como para los habitantes de las zonas rurales.

TEORIA

Actualmente los propósitos y objetivos educacionales que rigen la educación a nivel Latinoamérica y en México no es la excepción es que se trata de preparar a los jóvenes para responder a las demandas del trabajo moderno, que el alumno responda en forma eficaz, eficiente y competitiva, según dicho modelo educativo eso se logra mediante una serie de desarrollo de competencias, retomadas de modelos europeos esto es, ser, saber, hacer. Que a largo plazo lo que pretenden es que el profesional logre insertarse en el mercado de los servicios. Por su parte el modelo de acumulación de riqueza se basa en la agro exportación de productos de alto valor agregado y materias primas, el modelo busca maximizar las ganancias, generar una agricultura, pero sin campesinos. La propuesta del modelo de investigación formativa lo que pretende es abandonar el modelo de enseñanza-aprendizaje expositivo (memorístico) y trata de acercar a los alumnos a una problemática de la realidad que promueva la acción y la participación de los alumnos en los procesos de construcción social.

PARTE EXPERIMENTAL

Para llevar a cabo la presente investigación recurrimos a dos etapas en un ir y venir del campo al aula y viceversa, esto es, sensibilizar-capacitar a los alumnos respecto a huertos agroecológicos, sistemas campesinos de producción, sistema social (política social) y Derechos Humanos (DESCA). En campo los alumnos aplicaron encuestas estructuradas, observación participante, realización de talleres sobre hortalizas, abonos y pláticas sobre las 3R. Una vez entregados los reportes de investigación modular se realizó la evaluación sobre lo aprendido.

RESULTADOS

Se realizó la presente investigación en Coahuila en el municipio de Atotonilco de Tula (Hgo) se trata de una comunidad pobre, sin tierras fértiles para la producción de maíz-frijol o trigo. El clima es semiárido, hay escasez de agua, la precipitación pluvial es de menos de 500 mm, la vegetación corresponde a matorral xerofito, caracterizado por nopal, cardón, huizache, mezquite y pirul. El número de viviendas es de 48 ubicadas junto a la avenida principal junto a la iglesia y la primaria. En pláticas informales con las señoras de la comunidad afirman que hay un consumo regular de frutas y verduras, las cuales se compran en el tianguis los domingos en la cabecera municipal de Atotonilco y en Apaxco no hay producción local de alimentos. En la división del trabajo al interior de los hogares las mujeres son las encargadas de comprar, preparar, cocinar, por su parte los hombres se dedican al trabajo asalariado y algunos cuentan con pequeñas parcelas de producción de cebada. Por el trabajo asalariado de la mayoría de los hombres que trabajan en la cementera Holcim, la pobreza es media. Se realizaron reuniones informativas con aproximadamente 15 mujeres, ahí se expuso la importancia de la alimentación basada en el plato del buen comer. En un dialogo entre alumnos y amas de casa se constató que saben que no cuentan con una alimentación adecuada limitada a los costos de los productos. Otro factor que interviene en el bajo consumo de frutas y verduras es el aislamiento y la falta de transporte. Entre las soluciones se pactó realizar huertos caseros, para ello se colectaron desechos de la basura, como cacerolas, llantas, tinajas para establecer huertos. Si bien se elaboraron abonos agroecológicos como el bocashi, agroplus y purín estos fueron abandonados al retirarnos de la comunidad, el espacio fue destruido. Los huertos en llantas fueron atacados por plagas de pulgones.

DISCUSION

La relación sociedad – naturaleza ha sido trastocada profundamente con el arribo de la sociedad moderna. En la zona rural las relaciones de genero son fundamentales en el manejo de recursos naturales, sobresaliendo el cuidado del agua, la contaminación ambiental y sus consecuencias sobre la salud. Los sistemas de producción casera (huerto, traspatio) se han perdido casi por completo en Cuayuca, donde antes había frijol secándose al sol, o maíz en las azoteas y en los patios ahora hay mascotas como perros de razas grandes, residuos de basura (PET, desechos industriales) para la venta en las recicladoras. En este espacio las relaciones de poder y la toma de decisiones determinan los tiempos de ocupación y el acceso a otras fuentes de recursos, prevaleciendo una profunda desigualdad entre hombres y mujeres, donde ellas siendo jefas de familia no disponen del tiempo para aprender nuevas tecnologías, pues esto les quita mucho tiempo. La riqueza de los huertos caseros tiende a desaparecer pues muchas mujeres prefieren comprar medicamentos en lugar de producirlos para preparar infusiones.

La resistencia a adoptar metodologías interdisciplinarias que aborden temas sociales como la pobreza, la política social, los derechos humanos, en conjunto con bioquímica, fisicoquímica, anatomía, nutrición, es complicado para la mayoría de los alumnos. Realizar investigaciones donde se cumplan habilidades lógicas (procedimientos) no es asimilado tan fácilmente por ellos. Pues en la lectura de dichas investigaciones vemos que se reparten el trabajo (se reparte para su elaboración) no hay una hechura lineal, por lo tanto, esto indica que hay una fragmentación del saber en campos separados lo social, lo económico, lo biológico, sin una integración holística. Las mujeres de la comunidad tienen múltiples actividades todo el día como cocinar, asear la casa, ayudar en labores del campo, lavar, cuidar niños, asistir a juntas de la escuela, de los programas sociales, descansan poco y no tienen tiempo de convivir con otras mujeres de su misma comunidad.

CONCLUSIONES

Los huertos caseros vistos como contendedores naturales de la agrobiodiversidad, sistema educativo para infantes, espacio potenciador de mecanismos de mercado (de productos excedentes) está en riesgo. Los sistemas modernos de reciclar, reducir y reutilizar no han sido adoptados por la población campesina, si ni quiera hay un sistema de recolección en orgánicos e inorgánicos. Sin embargo, desde nuestra perspectiva profesional seguiremos insistiendo en adoptar e implementar sistemas agroecológicos con alumnos y con campesinos, pues como señalara en su momento Aldo Leopold la salud de la tierra está en riesgo.

BIBLIOGRAFIA.

1. Alayon G. J.A. y Morón Ríos, El huerto familiar, un sistema socio ecológico y biocultural, El Colegio de la Frontera Sur. México, 2014.
2. Morales, H., Hernandez C., et al, Sembremos ciencia y conciencia, manual de huertos escolares para docentes, El Colegio de la Frontera Sur. 2016. México.

ANÁLISIS DE CARBOHIDRATOS DEL ASERRÍN DE *Abies religiosa* HIDROLIZADO POR EL MÉTODO STEAM EXPLOSION

Edna Elena Suárez Patlán, Marcos Alfredo Escalante Álvarez, Noel Carrillo Ávila, Casimiro Ordoñez Prado y Martha Elena Fuentes López.

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental San Martinito, Km 56.5 Carr. Fed. México-Puebla, Tlahuapan, Puebla. C.P.74103, ednamorelia@hotmail.com; suarez.edna@inifap.gob.mx
Departamento de Madrea Celulosa y Papel, Universidad de Guadalajara, Km. 15.5 Carretera Guadalajara-Nogales, Las Agujas, C.P. 45010, Zapopan, Jalisco, México.

RESUMEN

Aserrín de *Abies religiosa* se utilizó para la obtención de carbohidratos mediante el método de explosión súbita de vapor o steam explosion. El aserrín se hidrolizó con vapor a altas presiones seguido de una liberación súbita de la presión, causando el rompimiento en la matriz celular, hidrolizando los enlaces ligno-celulósicos y promoviendo la eliminación de los grupos acetilo. Se utilizaron presiones de vapor de 25, 30, 35 y 40 kg/cm² con tiempos de residencia de vapor de 5, 10 y 15 minutos. Se usó aserrín con y sin pretratamiento ácido. La determinación del contenido de azúcares reductores se hizo por el método DNS y la caracterización de carbohidratos mediante cromatografía líquida de alta resolución. Los resultados se evaluaron estadísticamente mostrando que todos los tratamientos son diferentes entre ellos, siendo los más efectivos para la obtención de azúcares reductores los de 30 y 35 kg/cm² y 10 minutos de residencia con un contenido promedio de 20%. En cuanto al perfil de carbohidratos, se encontró que los azúcares presentes en el hidrolizado por el método steam explosion fueron glucosa y xilosa en promedios de 7.5% de glucosa y 5.5% de xilosa a 40 kg/cm² y 3.9% de glucosa y 5.1% de xilosa a 35 kg/cm² con 10 minutos de residencia.

INTRODUCCIÓN

La actividad forestal de México se basa principalmente en el aprovechamiento de los bosques, en este proceso, que va desde las prácticas silvícolas hasta la transformación de la madera, se genera gran cantidad de residuos (Lesme *et al.*, 2006). A nivel nacional los principales productos forestales que se obtienen son: en primer lugar, madera para aserrío (escuadría y durmientes), en segundo lugar, la producción de combustibles (leña y carbón), y una pequeña proporción se destina a celulosa, chapa, triplay, postes, pilotes y morillos (SEMARNAT, 2013). Así mismo, la industria del aserrío es la que produce la mayor proporción de residuos. Se estima que anualmente se genera 1'847,143 m³ (Carrillo *et al.*, 2012). En la producción forestal maderable de los estados del centro del país se aprovecha principalmente el Género *Pinus* y *Abies*, seguido de *Quercus* y otras latifoliadas, generalmente se fabrican tabletas para tarimas, madera dimensionada como tablas, tablones, polines y vigas. Se estima que entre el 41 y 50 % del volumen de madera que entra en los centros de transformación se queda como masa residual, estos residuos pueden ser utilizados como materia prima para la elaboración de nuevos productos. (SEMARNAT, 2013).

Una de las vías para aprovechar los residuos forestales es por medio de la celulosa, hemicelulosa y lignina presente en los residuos vegetales, mediante ciertas transformaciones químicas y biotecnológicas (González, 2011). Se pueden liberar azúcares sencillos como la glucosa, xilosa, arabinosa, manosa y galactosa y a partir de ellas elaborar una serie de productos químicos (Schaffeld, 2011; Negro *et al.*, 1990).

El método conocido como steam explosion puede ser un método factible para hidrolizar los residuos lignocelulósicos y obtener los componentes de la madera para la elaboración de nuevos

productos, este método sustituye los reactivos químicos utilizados en la hidrólisis química convencional lo que hace un proceso más amigable con el medio ambiente y se prevé económicamente más rentable.

TEORÍA

Los residuos lignocelulósicos son los más abundantes en la naturaleza, constituyen una fuente de materia prima importante para la obtención de productos de gran valor agregado, son de interés principalmente por sus tres componentes poliméricos lignina, celulosa y hemicelulosa (Triana, 2010). Los principales elementos químicos de la madera son carbono, hidrógeno y oxígeno; y en proporciones pequeñas nitrógeno, su combinación sirve para generar los principales componentes orgánicos que son celulosa, hemicelulosa y lignina (Gómez y Arreola, 2012).

La celulosa es un polisacárido considerado el compuesto orgánico más abundante en la naturaleza, comercialmente este polisacárido se obtiene de la madera y del algodón. La celulosa es un homopolisacárido lineal de unidades D-glucopiranosas, los monómeros se unen mediante enlaces glucosídicos β -1,4, sus largas cadenas paralelas se alinean sobre un eje longitudinal y establecen un gran número de puentes de hidrógeno intermoleculares lo que da origen a microfibrillas, estas a su vez forman fibras altamente estructurales. Tienen formas cristalinas y amorfas: las primeras se producen cuando las moléculas se enlazan con un alto grado de ordenación, mientras que en las segundas no existe este orden. Puede ser hidrolizada por la acción de ácidos como el sulfúrico y el clorhídrico (Badui, 2006). Las hemicelulosas son de gran abundancia en el reino vegetal, estas se clasifican en pentosanos y hexanos. Los pentosanos están constituidos fundamentalmente por aldopentosas (monosacáridos de 5 átomos de carbono) y los hexanos están formados por aldohexosas (monosacáridos de 6 átomos de carbono) (Gutiérrez, 2010). La hemicelulosa, es el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza, es un polímero complejo de carbohidratos formado por pentosas (D-xilosa y L- arabinosa) y hexosas (D-glucosa, D-manosa y D-galactosa) que forman cadenas ramificadas y ácidos urónicos (galactúricos y glucúricos), los azúcares están unidos por enlaces β -1,4, y ocasionalmente por enlaces β - 1,3, el componente dominante de la hemicelulosa de la madera y plantas agrícolas es el xilano (Cortés, 2013). Las hemicelulosas son solubles en soluciones alcalinas concentradas (hidróxido de sodio o de potasio al 18 ó 24 %), presentan una estructura amorfa, y actúan como agentes cementantes en el tejido vegetal (Badui, 2006). La hidrólisis de las hemicelulosas en materiales lignocelulósicos, originan por hidrólisis unidades de azúcares; como D- xilosa, L- arabinosa, D-glucosa, D-galactosa, D-manosa, y ácidos urónicos (Dagnino *et al.*, 2012).

El *Abies religiosa* es una especie maderable del alto aprovechamiento, su distribución natural en nuestro país es en los estados de Hidalgo, Puebla, Veracruz, Michoacán, Jalisco, Morelos, Tlaxcala, Guerrero, México y el Distrito Federal en un rango altitudinal que va desde los 2,100 a los 3,600 msnm, en ambientes con una temperatura media anual entre los 7 y 15° C, con una precipitación media anual de 1,000 mm y suelos volcánico del tipo andesitas, basaltos y riolitas (Castillo, 2011). La madera de *Abies religiosa* tiene una gran demanda, debido a los múltiples usos que se le ha dado. La carencia de olor y peso ligero de su madera, la hacen apropiada para la obtención de pulpa para papel y madera aserrada. La pulpa puede usarse en la obtención de varias clases de papel de imprenta y papel de estraza de alta calidad (Luna, 2002). Esta madera contiene en promedio 78% de holocelulosa y 37.02% de lignina (Lima, 2012).

Un método no tan común es el de explosión súbita de vapor o “steam explosion” que consiste en someter un material lignocelulósico en contacto directo con vapor a altas presiones y por diferentes tiempos, el vapor se libera de manera súbita para que cause rompimiento en la matriz celular (Triana, 2010). Este se define como un método de fraccionamiento del material lignocelulósico que persigue fundamentalmente la hidrólisis de las hemicelulosas (Lozanoff *et al.*, 2007). Este proceso se basa en la acción hidrolítica del vapor a altas temperaturas que hidroliza los enlaces lignino-celulósicos, la solubilización de la hemicelulosa y eliminación de los grupos acetilo (Basurto *et al.*,

2012). Es uno de los pretratamientos más efectivos para las maderas duras y desechos agrícolas, pero poco eficiente para maderas suaves (Cuervo *et al.*, 2009). Una de las ventajas de este método es que son un requerimiento bajo de energía comparado con los métodos físicos convencionales que requieren 70% más energía para alcanzar el mismo tamaño de reducción de partículas (Cuervo *et al.*, 2009). El tratamiento explosivo con vapor, fue patentado en 1926 por Masón utilizado para la producción de tableros de madera, y ha sido tradicionalmente empleado como pretratamiento para la producción de papel y etanol (Negro *et al.*, 1990). Desde el punto de vista ambiental, es un método poco contaminante, sin embargo, presenta dos dificultades; la producción de agentes inhibidores como furfural, ácidos orgánicos e hidroximetilfurfural (HMF) (Sánchez, 2011) y problemas de separación que pueden incrementar los costos de operación, a pesar de esto, este método ha sido implementado con éxito en la producción de hidrolizados con alta concentración de azúcares reductores a partir de materiales lignocelulósicos (Triana, 2010).

PARTE EXPERIMENTAL

Este trabajo se realizó en tres etapas, la primera etapa fue la hidrólisis por el método de explosión súbita de vapor de la materia prima, se realizó en las instalaciones del Campo Experimental San Martinito del INIFAP, ubicado en la localidad de Tlahuapan, Puebla. La segunda etapa, fue la preparación del licor de hidrólisis y la determinación de azúcares reductores, se realizó en el laboratorio de biomateriales del Departamento de Madera, Celulosa y Papel del Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías de la Universidad de Guadalajara, ubicado en Zapopan, Jalisco. Y la tercera y última etapa, fue la caracterización de los licores de hidrólisis en HPLC, esta se desarrolló en el laboratorio de bioingeniería del Tecnológico de Veracruz.

La muestra se obtuvo de tres aserraderos de la región de Chignahuapan, Puebla, el aserrín colectado fue de *Abies religiosa* obtenido de la sierra principal mientras se procesaba la troza de la especie previamente identificada, la muestra se dividió en dos lotes con el propósito de tener un lote con pretratamiento ácido y el otro sin pretratamiento alguno. El pretratamiento ácido consistió en un baño de ácido sulfúrico al 1% de concentración durante 8 horas con agitación magnética y una temperatura de 80°C, al término del baño ácido se lavó la muestra tres veces con agua caliente y una vez más con agua fría y se filtró para pasar al tratamiento de explosión súbita de vapor. Al otro lote de aserrín no se le dio ningún tipo de pretratamiento y se pasó al reactor tal como sale del aserradero.

La hidrólisis del aserrín de *Abies religiosa* se realizó en un reactor de reciente construcción en el INIFAP, consta de un quemador para gas LP marca RIELLO a 671,000 BTU de capacidad, una caldera con capacidad de 2.038 HP y generación de 31.2 kg de vapor por hora para una presión máxima de trabajo de 51.84 kg/cm², un reactor de acero inoxidable cedula 40, de 6 pulgadas de diámetro por 12 pulgadas de longitud terminada en cono, entrada a 1 pulgada y salida a 1.5 pulgadas, válvula tipo esfera para 1000 PSI de acero inoxidable con actuador electrónico a 3 segundos y un tanque receptor.

Las condiciones establecidas para la hidrólisis del aserrín fueron: presiones de 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 y 50 kg/cm² y tiempos de residencia de 5, 10 y 15 minutos, con el propósito de encontrar las condiciones más favorables de hidrólisis del aserrín de *Abies religiosa* en las cuales se obtenga la mayor cantidad de azúcares precursores. De la explosión súbita de vapor de las muestras, se recuperó el hidrolizado en el tanque receptor. La muestra que consta de una fracción soluble (licor de hidrólisis) y una fracción sólida se pasó por un tamiz malla # 325, con el propósito de separar las dos fracciones. Se filtró el licor de hidrólisis con la ayuda de un embudo Büchner y papel filtro, se midió el volumen en probetas de vidrio y se pesó la fracción sólida.

Para la posterior determinación de azúcares reductores de los licores obtenidos de las hidrólisis de cada condición de presión y tiempo se realizó la preparación de las muestras, primero se centrifugaron en centrifuga LABOGENE Mod.1580, por 30 minutos a 4000 RPM, al término de la

centrifugación las muestras se decantaron en un equipo de filtración pasando por una membrana de nylon de 0.45 μm con ayuda de una bomba de vacío. A los licores de hidrólisis filtrados se les determinó el pH con un potenciómetro THERMO ORION 420 el cual se calibró previamente con soluciones Buffer de pH 4, 7 y 10.

La determinación de azúcares reductores se realizó por medio del método colorimétrico dinitrosalicílico (DNS) en un espectrofotómetro HACH DR 500, longitud de onda única a 575 nm. Se realizó una curva de calibración con un estándar de glucosa a diferentes concentraciones, el cual se midió en el espectrofotómetro previo al análisis de las muestras. El análisis se realizó a las muestras hidrolizadas de *Abies religiosa* con y sin pretratamiento ácido y se realizaron por duplicado, para los casos donde se obtuvieron coeficientes de variación mayores a 3% se realizó una tercera medición. Las muestras de licor para su lectura se tuvieron que diluir con agua de-ionizada bi-destilada en un volumen de 1:10 mL, algunas muestras que no fueron detectadas por el equipo, se repitieron bajando la dilución en un volumen de 1:25 mL. Para la preparación de las muestras se midieron 1000 μL de cada uno de los licores con una micro pipeta y se vertieron a un matraz aforado de 25 mL, el cual se aforó con agua destilada. De las muestras preparadas, se tomaron 3 mL para colocarlos en un tubo de ensaye y agregarle 3 mL más de solución de ácido dinitrosalicílico al 1% previamente preparada. Se completaron lotes de 8 tubos de ensaye y se llevaron a baño maría a temperatura de ebullición durante 10 minutos, al término de este tiempo se sacaron del agua y se colocaron en una gradilla para agregarles 1 mL de solución de tartrato de sodio con la finalidad de detener la reacción y se metieron en 2 baños de agua fría hasta que alcanzaron temperatura ambiente. Finalmente se llevaron a leer en el espectrofotómetro, colocando cada una de las muestras en la celda de cuarzo del equipo. Previo a las mediciones de los licores se realizó un blanco de agua destilada con el cual se calibró el equipo a cero.

El análisis de carbohidratos se realizó por medio de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC por sus siglas en inglés) en un HPLC con módulo de separación Waters 2695 y detector Waters 2414, columnas SHODEX SH1011. Con una velocidad de inyección de 1 ml/min, 490 psi de presión y 55°C. Se prepararon curvas de calibración de glucosa, galactosa, ribosa, arabinosa, manosa, furfural, 5 hidroximetil furfural, glicerol, ácido acético y etanol. Respecto a la preparación de las muestras para su análisis, se homogeneizaron en Vortex por 20 segundos cada una, se tomó 1 ml de cada muestra y se colocó en un tubo Eppendorf, a cada tubo se añadió 125 μL de sulfato de zinc al 5% y 124 μL de óxido de bario 0.3 molar, se cerraron los tubos, se homogeneizaron en Vortex por 10 segundos y se dejaron reposar por 10 minutos, para posteriormente centrifugarse en centrifuga Eppendorf por 10 minutos a 10,000 rpm. Una vez concluida la centrifugación de las muestras, se tomó del tubo Eppendorf 1 ml de la muestra con jeringa, para posteriormente pasarlo a un vial con previa filtración mediante un acrodisco de nylon de 0.20 μm . Este tratamiento se dio a cada muestra y se formaron en el carrusel que alimenta el analizador HPLC para su posterior lectura. Cada muestra se corrió en el equipo durante 1 hora, ya que el furfural se encuentra después del minuto 50.

Los resultados se analizaron mediante un diseño multifactorial con el programa estadístico Statgraphics Centurión, se aplicó un análisis de varianza y una comparación múltiple de medias, los resultados de varianza indican significancia estadística sobre los factores presión y tiempo de hidrólisis, cuando el valor de P de cada uno de estos es ≤ 0.05 se rechaza la hipótesis de que los niveles de los factores son iguales entre ellos y se acepta la hipótesis que dicta que al menos un nivel de los factores es diferente entre ellos, la comparación de medias por mínimos cuadrados se obtiene con un intervalo de confianza de 95% y la prueba múltiple de rangos nos ayuda a identificar cuales medias son significativamente diferentes de otras con un nivel de confianza del 95% mediante el método (LSD) de Fisher.

RESULTADOS

Análisis de los azúcares reductores obtenidos de la hidrólisis de aserrín de *Abies religiosa* por explosión súbita de vapor: Se evaluaron tres variables independientes; factor C) aserrín con y sin pretratamiento ácido, factor D) presión y factor E) tiempo, sobre la variable dependiente o de respuesta; azúcares reductores. El ANOVA indica que las tres variables, así como la interacción de las mismas tienen efecto significativo sobre la variable de respuesta con un 95.0% de nivel de confianza (Tabla 1).

Tabla 1: Análisis de varianza de los factores experimentales sobre azúcares reductores

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
C: Pre tratamiento ácido	8439.23	1	8439.23	906.08	0.0000
D: Presión (kg/cm ²)	5259.24	7	751.321	80.67	0.0000
E: Tiempo (minutos)	495.781	2	247.89	26.61	0.0000
INTERACCIONES					
CD	3078.22	7	439.746	47.21	0.0000
CE	338.616	2	169.308	18.18	0.0002
DE	1939.84	14	138.56	14.88	0.0000
CDE	1800.54	14	128.61	13.81	0.0000
RESIDUOS	121.082	13	9.31401		
TOTAL (CORREGIDO)	28438.0	190			

En las tablas 2, 3 y 4 se presenta el análisis de los grupos homogéneos empleando el método (LSD) de Fisher que tiene un nivel de confianza del 95 % para determinar cuáles medias son significativamente diferentes. Respecto al factor C: Pretratamiento, se muestra que existen dos grupos según la alineación de las X's, uno para aserrín sin pretratamiento y otro para aserrín con pretratamiento ácido, siendo este último el de mayor contenido de azúcares reductores con una media de 21% (tabla 2).

Tabla 2: Prueba de rangos múltiples para azúcares reductores por el factor pretratamiento.

Pretratamiento	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Sin pre tratamiento	95	7.42187	0.332988	X
Con pre tratamiento	96	21.1469	0.311482	X

En la tabla 3 se presentan los grupos homogéneos del factor D: Presión en la cual destaca que los grupos de las presiones de 30 y 35 kg/cm² son estadísticamente iguales y los más altos con medias de 19 y 20% de azúcares reductores.

Tabla 3: Prueba de rangos múltiples para azúcares reductores por el factor presión.

Presión (kg cm ²)	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
15	24	3.23333	0.622964	X
20	24	10.7875	0.622964	X
25	24	12.0	0.622964	X
45	23	15.35	0.780926	XX
50	24	15.4083	0.622964	X
40	24	17.3958	0.622964	XX
35	24	19.2042	0.622964	XX
30	24	20.8958	0.622964	X

En la tabla 4 se presentan los grupos homogéneos del factor E: Tiempo, en la cual se puede observar que el grupo de 5 y 15 minutos es homogéneo siendo el tiempo de 10 minutos estadísticamente diferente y el grupo más alto con una media de 16% de azúcares reductores.

Tabla 4: Prueba de rangos múltiples para azúcares reductores por el factor tiempo.

Tiempo (minutos)	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
15	64	12.8906	0.381486	X
5	64	13.2594	0.381486	X
10	63	16.7031	0.420377	X

Los resultados obtenidos tienen relación con algunos encontrados en la literatura ya que han coincidido en que a medida que las condiciones de presión son más severas se genera un rendimiento mayor de carbohidratos (Núñez, 2011). Sin embargo, en este estudio se observa que en 35 kg/cm² está el tope de mayor contenido de carbohidratos, ya que de esta presión a la de 50 kg/cm² desciende el rendimiento de azúcares reductores. López *et al.*, (2009), utilizaron aserrín del genero *Pinus sp* sin tratamiento ácido, mediante explosión con vapor a 90 minutos de tiempo y 121°C y obtuvo como mayor resultado 9.62% de azúcares reductores. Gómez (2013), utilizó explosión con vapor a condiciones de presión de 10.9 kg/cm² y 2 minutos de tiempo y obtuvo 4.76 g/L para *Eucalyptus camaldulensis* y 5.42 g/L para *Pinus patula*.

Análisis de la determinación de carbohidratos por HPLC obtenidos de la hidrólisis del aserrín de *Abies religiosa* por explosión súbita de vapor: De los resultados obtenidos de las curvas de calibración de azúcares, se puede observar que se empalman la galactosa y la manosa en los tiempos de 14.30 y 14.31 minutos y la ribosa y la arabinosa muy cercanos en los tiempos 15.1, y 15.6 minutos. Esto podría ser un problema al momento de identificar los azúcares en las muestras, sin embargo, de acuerdo a la literatura especializada en las maderas suaves como es el caso de la analizada en este proyecto es más probable encontrar solo manosa en aproximadamente 22% y xilosa en aproximadamente 8%.

Respecto a los resultados obtenidos del análisis de las muestras de hidrolizados de *Abies religiosa* en HPLC y contrapuestos con las curvas de calibración se encontró que los azúcares presentes en dichos hidrolizados son principalmente glucosa y xilosa. Otros productos encontrados en los hidrolizados fueron el 5 Hidroximetil furfural (5HMF) y el furfural en concentraciones que van de 0.074 a 0.423 g/L para el 5 HMF y de 0.016 a 0.106 g/L para el furfural. Estando este último presente en muy pocas muestras. El 5 HMF es un producto derivado de la reacción que se genera en la explosión súbita de vapor.

Se evaluaron dos variables independientes; factor A) aserrín con y sin pretratamiento ácido y factor B) presión (kg/cm²), sobre las variables dependientes o de respuesta; glucosa y xilosa (%). Como se puede observar en la tabla 5 del ANOVA, la presión es el único factor significativo que tiene influencia en el contenido de glucosa. Mientras que en la tabla 6 el ANOVA indica que el contenido de xilosa se ve afectado por los dos factores pretratamiento y presión.

Tabla 5: Análisis de varianza de los factores experimentales sobre glucosa.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Pre tratamiento	5.95557	1	5.95557	2.16	0.1507
B:Presión (kg/cm ²)	140.114	3	46.7048	16.98	0.0000
INTERACCIONES					
AB	15.427	3	5.14235	1.87	0.1540
RESIDUOS	90.7808	33	2.75093		

TOTAL (CORREGIDO)	417.407	48			
-------------------	---------	----	--	--	--

Tabla 6: Análisis de varianza de los factores experimentales sobre xilosa.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Pre tratamiento	14.3069	1	14.3069	5.35	0.0271
B:Presión (kg/cm ²)	25.9157	3	8.63855	3.23	0.0347
INTERACCIONES					
BC	13.7008	3	4.56695	1.71	0.1843
RESIDUOS	88.2133	33	2.67313		
TOTAL (CORREGIDO)	163.74	48			

En las tablas 7, 8 y 9 se presentan los grupos homogéneos de los factores significativos, empleando el método (LSD) de Fisher que tiene un nivel de confianza del 95 %. Encontrándose que la media estadísticamente significativa del factor B: Presión, para la obtención de glucosa es la de la presión de 40 kg/cm² siendo esta la más alta con 7.5% de glucosa (tabla 7), mientras que en la tabla 8 se muestra que las presiones de 25 y 30 kg/cm² se encuentran en un grupo homogéneo, 30 y 35 kg/cm² en otro, y 35 y 40 kg/cm² hacen otro grupo, siendo este último el más alto, por lo tanto 35 y 40 kg/cm² de presión son estadísticamente diferentes a los demás con medias de 5.1 y 5.5 % de xilosa. Respecto a la tabla 9 para el factor A: Pretratamiento, se puede observar que existen dos grupos diferentes, siendo el más alto en porcentaje de xilosa el del aserrín pre tratado con una media de 5.1 % contra 4% del grupo sin pretratamiento ácido.

Tabla 7: Prueba de rangos múltiples para glucosa por el factor presión.

Presión (kg/cm ²)	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
25	12	3.55	0.478795	X
30	12	3.66667	0.478795	X
35	12	3.96667	0.478795	X
40	13	7.56458	0.463591	X

Tabla 8: Prueba de rangos múltiples para xilosa por el factor presión.

Presión (kg/cm ²)	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
25	12	3.725	0.471976	X
30	12	4.1	0.471976	X X
35	12	5.11667	0.471976	X X
40	13	5.50833	0.456988	X

Tabla 9: Prueba de rangos múltiples para xilosa por el factor pretratamiento.

Pre tratamiento	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Sin pre tratamiento	25	4.07083	0.328481	X
Con pretratamiento	24	5.15417	0.333737	X

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos se determinó que los todos los factores afectan la producción de azúcares reductores, encontrando que las mejores condiciones para la generación de azúcares reductores es presión de 30 kg/cm², tiempos de residencia de 10 minutos y aserrín con pretratamiento ácido.

Los hidrolizados de aserrín de *Abies religiosa* obtenidos mediante explosión súbita de vapor contienen glucosa y xilosa principalmente. Siendo las mejores condiciones de hidrólisis 35 kg/cm² con pretratamiento ácido para la obtención de xilosa y 40 kg/cm² sin pretratamiento ácido para glucosa.

BIBLIOGRAFÍA

1. R. Lesme, L.O. Oliva, A. Palacios, N. L. Lesmes, (2006). Coeficiente de residuos de la industria forestal, Tecnología química. 16(3).
2. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2013), Anuario estadístico de la producción forestal 2013, Dirección General de gestión Forestal y de Suelos. México.
3. N. Carrillo, M.E. Fuentes, P. Aguilar, R. Flores, C. Ordoñez, E. Buendía, (2012). Uso de los residuos forestales en la producción de bioenergía, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Pecuarias. C.E. San Martinito Tlahuapan Puebla. México.
4. J.C. González, M. Álvarez, L.C. Ornelas, M.A. Zamudio, (2011). Producción y aplicaciones biotecnológicas del xilitol. Instituto Tecnológico de Morelia, Bio Tecnología, 15 (2).
5. G. Schaffeld, (2011), Aprovechamiento de los residuos de la industria forestal, Universidad del Bío-Bío, Concepción, Chile.
6. M.J. Negro, (1990). Efecto del pretratamiento con explosión por vapor en la hidrólisis enzimática de madera de eucalipto y bagazo de sorgo. Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas, Madrid, España.
7. C.F. Triana, (2010), Producción de etanol a partir de residuos provenientes del cultivo del café (Tesis de maestría) Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales.
8. F. Gómez, R.P. Arreola, (2012). la especie *Gmelina arborea* Roxb. como materia prima para la fabricación de productos celulósicos en México. Revista Mexicana de Ciencias Forestales, 10, (56).
9. S. Badui, S. (2006). Química de alimentos. México: Editorial Pearson educación de México.
10. A. Gutiérrez, (2010), Composición química de diversos materiales lignocelulósicos de interés industrial de sus ligninas, Instituto de recursos naturales y agro biología de Sevilla.
11. W.G. Cortez, (2013). Tratamiento aplicable a materiales lignocelulósicos para la obtención de etanol y productos químicos. Revista de Tecnología 13 -39
12. E.P. Dagnino, F.S. Roggero, W.G. Morales, E.R. Chamorro, F.E. Felissia, S.D. Romano, (2012). Hidrólisis enzimática de cascarilla de arroz pretratada con ácido diluido para evaluar la eficacia de La etapa de pretratamiento. Grupo UNT de investigación en Química Orgánica Biológica Argentina.
13. J.D. Castillo, (2011). Factores de influencia en el enraizamiento de estacas de *Abies Religiosa* (H.B.K) Schl. Et Cham. (tesis de maestría). Colegio de posgraduados. Campus Montecillo. Texcoco México.
14. V.E. Luna, (2002). Inducción de respuesta morfogénica en *Abies religiosa* (Kunth) Schldl. & Cham. Y *AHickelii* Flous & Gausen de la región del Cofre de Perote, Veracruz (Tesis de maestría). Universidad Veracruzana. Veracruz.
15. L. Lima, (2012). Evaluación de la composición química y propiedades físicas de madera y corteza de cuatro coníferas para la producción de bioenergía, (tesis de maestría) Universidad Autónoma de Nuevo León. Nuevo León.
16. J. Lozanoff, S. Heinichen, G. Marchi, E. Risso, (2007). Bioenergía Revisión de tecnologías emergentes, Observatorio de Políticas Públicas, Consultado en: <http://frre.utn.edu.ar/IIJCyT/clean/files/get/item/2151>.
17. R. Basurto, A. Escamilla, S. Moya, E. Ramírez, J. Becerra, (2012). Composición química, digestibilidad y cinética rumial de la digestión de residuos agrícolas tratados con explosión de vapor. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias 3, 407–424.
18. L. Cuervo, J.C. Folch, R.E. Quiroz, (2009). Lignocelulosa como fuente de azúcares para la producción de etanol. Bio Tecnología 13 (3).

19. G. Sánchez, (2011). Hidrólisis con explosión por vapor en medio ácido de residuos agroindustriales para la obtención de bioetanol.
20. M.R. Núñez, (2011). Efecto de la temperatura y la concentración de H₂SO₄ (ácido sulfúrico) en el pretratamiento de digestión de aserrín de pino (*Pinus ocarpa*) para la producción de etanol lignocelulósico (Tesis de licenciatura) Zamorano, Honduras.
21. J. López, N.O. Soto, O.M. Rutiaga, H. Medrano, K. Arévalo, (2009) Optimización del proceso de obtención enzimática de azúcares fermentables a partir de aserrín de pino. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 25(2): 95-102.
22. E.A. Gómez, L.A. Ríos, J.D. Peña, (2013). Efecto del pretratamiento de biomasa maderera en el rendimiento a etanol. *Información Tecnológica* 24 (5).

EFFECTO DEL PLOMO EN LAS HORMONAS FEMENINAS

Saribel Zilli Gutiérrez y Leticia Guadalupe Navarro Moreno.

Universidad del Papaloapan Campus Tuxtepec Av. Circuito Central No.200, Colonia Parque Industrial, Tuxtepec, Oaxaca C.P. 68301.Tel: 287-87-5-92-40. Correo electrónico: saribel_zilli@hotmail.com, lgnavarrom@hotmail.com

RESUMEN

La contaminación en el planeta es un fenómeno que involucra diversos problemas de salud. Como consecuencia se generan problemas en hombres y mujeres expuestos a diferentes niveles de plomo en su entorno. El efecto del plomo a nivel hormonal ha sido sujeto a poca investigación debido a las complicaciones que ocasionan éstas al comportarse algunas veces como agentes sinérgicos del plomo. Las hormonas son moléculas de diversa naturaleza química que se producen en células secretoras o endócrinas, se liberan en vasos sanguíneos donde circulan hasta alcanzar células blanco en donde sus receptores hormonales les permiten transmitir su señal. El efecto del plomo en las hormonas femeninas se estudiará en ratas de diferentes edades con diferentes etapas hormonales. Cada grupo tendrá un tratamiento diferente. El primero será intoxicado vía oral durante 21 días con plomo el segundo grupo tendrá un tratamiento con estrógenos durante 21 días y se monitoreará el periodo de embarazo también el efecto del plomo y estrógenos en estas para lo cual se extraerán órganos: riñón, cerebro, hígado, y glándulas como: timo, ovarios y bazo. Las primeras observaciones del trabajo han sido a nivel superficial las ratas han mostrado erizamiento en la piel y un aumento de peso en ratas no expuestas a gestación, el grupo intoxicado con plomo ha tenido necrosis en los órganos así como la inflamación de las venas que rodean a los órganos, las ratas expuestas a periodo de embarazo con tratamiento de estrógenos tuvieron gestación y parto con normalidad con un número inferior de crías a lo esperado en comparación con ratas control.

INTRODUCCIÓN

La contaminación ambiental ha sido dividida en tres grandes ramas en relación con los diferentes ecosistemas: La contaminación atmosférica, contaminación del agua y contaminación del suelo¹. Entre las principales fuentes de contaminación ambiental destacan la explotación minera, la metalurgia, las actividades de fabricación y reciclaje y, en algunos países, el uso persistente de pinturas y gasolinas con plomo. Más de tres cuartas partes del consumo mundial de plomo corresponden a la fabricación de baterías de plomo-ácido para vehículos de motor. Sin embargo, este metal también se utiliza en muchos otros productos, como pigmentos, pinturas, material de soldadura, vidrieras, vajillas de cristal, municiones, esmaltes cerámicos, artículos de joyería y juguetes, así como en algunos productos cosméticos y medicamentos tradicionales. Este metal también puede estar contenido en el agua potable canalizada a través de tuberías de plomo o con soldadura a base de este metal. En la actualidad, buena parte del plomo comercializado en los mercados mundiales se obtiene por medio del reciclaje².

Los niños de corta edad son especialmente vulnerables a los efectos tóxicos del plomo, que puede tener consecuencias graves y permanentes en su salud, afectando en particular al desarrollo del cerebro y del sistema nervioso. El plomo también causa daños duraderos en los adultos, por ejemplo aumentando el riesgo de hipertensión arterial y de lesiones renales. En las embarazadas, la exposición a concentraciones elevadas de plomo puede ser causa de aborto natural, muerte fetal, parto prematuro y bajo peso al nacer, y provocar malformaciones leves en el feto³.

TEORÍA

La organización mundial de la salud (OMS) ha reportado en el 2016 que “En las mujeres embarazadas la exposición a concentraciones elevadas de plomo puede ser causa de aborto

natural, muerte fetal, parto prematuro y bajo peso al nacer, y provocar malformaciones leves en el feto todo eso por estar al contacto con inhalación de partículas de plomo generadas por la combustión de materiales que contienen este metal (por ejemplo, durante actividades de fundición, reciclaje en condiciones no seguras o decapado de pintura con plomo, o al utilizar gasolina con plomo); la ingestión de polvo, agua o alimentos contaminados (por ejemplo, agua canalizada a través de tuberías de plomo o alimentos envasados en recipientes con esmalte de plomo o soldados con este metal). Otra posible fuente de exposición al plomo es el uso de determinados productos cosméticos y medicamentos tradicionales⁴.

Una vez dentro del cuerpo, el plomo se distribuye hasta alcanzar el cerebro, el hígado, los riñones y los huesos, y se deposita en dientes y huesos, donde se va acumulando con el paso del tiempo. El plomo almacenado en los huesos puede volver a circular por la sangre durante el embarazo, con el consiguiente riesgo para el feto. Los niños con desnutrición son más vulnerables al plomo porque sus organismos tienden a absorber mayores cantidades de este metal en caso de carencia de otros nutrientes, como el calcio. Los grupos expuestos a mayor riesgo son los niños de corta edad (incluidos los fetos en desarrollo) y los pobres.

En madres y recién nacidos derechohabientes del Instituto Mexicano del Seguro Social, se ha observado que existe una correlación entre los niveles de plomo materno y fetal que la observada en otros estudios y llama la atención la presencia de niños con niveles de plomo más altos que el de sus madres, lo que ha sido señalado en otros estudios sobreniveles altos de plomo en hueso materno.

Si se considera como punto de seguridad para la presencia de daños a la salud 10 mg/dl del metal en sangre infantil y la prevalencia encontrada por arriba de este punto, en relación con el número de nacimientos anuales en población amparada por el IMSS, en la ciudad de México y que tienen las mismas características de este grupo (93 815, en 1993), se estima que aproximadamente 46 908 derechohabientes nacidos⁵.

De acuerdo a lo reportado sobre estudios clínicos en pacientes, el daño por plomo es mayor en mujeres y niños que en hombres, la diferenciación entre un hombre y una mujer es el sistema hormonal responsable de la regulación en la reproducción y el crecimiento del organismo. En estos sistemas se han comprobado varias alteraciones causadas por el plomo las cuales son problemas de gestación, daño psicomotor y de crecimiento en mujeres.

Si el plomo se transporta través del torrente sanguíneo sustituyendo al grupo Hemo en la hemoglobina se piensa que este puede sustituir o formar enlaces de coordinación con otras hormonas reguladoras del sistema reproductivo como estrógenos sistema de crecimiento y sistema neuronal ocasionando daños sobre las células diana que constituyen a los receptores hormonales y donde se presentan las consecuencias del daño⁶.

El daño se puede observar en los órganos y glándulas secretoras como un producto final de una cascada de señalización.

En este trabajo se explora el efecto de la exposición aguda a plomo en ratas Wistar hembras, se analizó el efecto en el crecimiento de las madres, la tasa de reproducción y el número y peso de las crías hasta el momento. Posteriormente se medirá la actividad de la enzima Glutación S-transferasa como indicador de daño en los órganos timo, bazo, ovarios, cerebro, hígado y riñón. Se realizarán observaciones de los mismos y se compararán los resultados con ratas control.

PARTE EXPERIMENTAL

Se analizaron grupos de tres ratas hembra Wistar con diferentes etapas hormonales con un peso de 150g, los grupos son:

Grupo plomo: ratas de aproximadamente un mes y medio de nacidas con 150g.a las que se les administro plomo vía oral durante 21 días.

Grupo hormona: ratas de aproximadamente un mes y medio de nacidas con 150g.a las que se les administró levonogestrel y etinil estradiol Intrapertoneal durante 21 días.

Grupo control: ratas de aproximadamente un mes y medio de nacidas con 150g.a las que no se les administró nada durante 21 días.

Grupo periodo embarazo plomo: ratas que estuvieron en periodo de gestación con plomo hasta el momento del parto

Grupo periodo embarazo hormona; ratas que estuvieron en periodo de gestación con levonogestrel y etinil estradiol hasta el momento del parto

Grupo control periodo de embarazo: ratas que tuvieron un parto sin administración de hormona y plomo durante el periodo de gestación

Se determinará los efectos de la exposición a plomo mediante la observación del comportamiento, el peso de la rata hembra y el período de gestación, el número de hijos, el peso de los mismos y su sobrevivencia. Se determinará el efecto de los metales en algunos órganos específicos y se llevarán a cabo los ensayos bioquímicos necesarios para poder determinar el efecto de los diferentes esquemas de intoxicación de los animales,

RESULTADOS

Grupo de ratas hembras control.

La tabla 1 indica el peso inicial y final de las ratas hembras, así como el número de crías y el peso de las mismas al nacer. Se observó que las hembras fueron ganando peso como resultado del proceso de embarazo, cuatro de las ratas aumentaron en promedio 35 gramos y dos de ellas aumentaron en promedio 69 gramos. Cinco de las ratas tuvieron entre 10 y 12 crías y solo una de ellas engendró cuatro crías. El peso promedio de las crías fue de 16 a 18 gramos.

A nivel renal las hembras no presentaron anomalías, solo una variación de pH entre cada una de las ratas que conformaron los grupos. Estos resultados se pueden observar en la tabla 2.

Tabla1. Peso inicial y final de las hembras, número de crías y peso de las crías en ratas control.

Rata.	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Número de crías	Peso de las crías (g)
1	117	255	11	17
2	183	213	4	16
3	182.5	225	10	16
4	185	218	12	18
5	197.5	253	11	18
6	184	245	10	18

Tabla 2. Examen General de Orina de ratas Wistar hembra control

Columna1	RATA1	RATA2	RATA3	RATA4	RATA5	RATA6
VOLUMEN	36ml	56ml	54ml	42ml	53ml	56ml
leucocitos	Neg	neg	Neg	neg	neg	neg
nitritos	Pos	pos pos	pos pos	neg	neg	neg
urobil	Neg	0.2(3.5)	0.2(3.5)	0.2	15(0.15)	15(0.15)
proteinas	Neg	neg	Neg	neg	neg	neg
Ph	5	7	8	9	8	6.5
sangre	Neg	neg	pn	neg	neg	neg
SG	1.005	1	1	1	1	1
cetona	Neg	neg	neg	neg	neg	neg
BIL	1(17)	neg	neg	neg	neg	neg
glucosa	Neg	neg	neg	neg	neg	neg

Ratas tratadas con hormonas anticonceptivas antes y durante el periodo de gestación.

Las ratas fueron tratadas bajo un esquema de hormonas anticonceptivas por un periodo de 21 días. La tabla 3 muestra que las ratas aumentaron en promedio 35 gramos durante el periodo de tratamiento. El número de crías disminuyó ya que cinco de las seis hembras tuvieron de 5 a 6 crías. La rata número dos mató a sus crías, por ello en la tabla se muestra el número 0. El peso de las crías también disminuyó siendo de 14 a 16 gramos, en relación al control.

En cuanto al examen general de orina las ratas de este grupo presentaron variación en el pH de 7 a 9, dos animales presentaron leucocitos y proteinuria, una rata presentó leucocitos y cinco animales presentaron bilirrubina en orina. Estos datos podrían indicar que el tratamiento con hormona causó algunas afectaciones a nivel renal. Los datos se muestran en la tabla 4.

Tabla3. Peso inicial y final de las hembras, número de crías y peso de las crías en ratas tratadas con hormonas.

Rata.	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Número de crías	Peso de las crías (g)
1	225	248	6	14
2	240	280	0	16
3	240	282	5	14
4	215	254	5	16
5	228.5	267	5	16
6	250	281.5	6	16

Tabla 4. Examen general de orina de ratas expuestas a tratamiento hormonal por 21 días.

VOLUMEN	R1 29ml	R2 29ml	R3 32ml	R4 11ml	R5 22ml	R6 20ml
SG	1	1.005	1	8	1.005	1.005
Ph	9	8	9	7	8	9
LEU	Neg	neg	neg	neg	1+	1+
NIT	Neg	neg	p	neg	neg	1+
PRO	Neg	neg	neg	norm	1+	1+
GIU	Norm	norm	norm	neg	neg	nor
KET	Neg	neg	norm	norm	norm	neg
UBG	Norm	norm	norm	neg	neg	norm
BIL	1+	1+	neg	1+	1+	1+
ERY	Neg	neg	neg	neg	neg	neg
HB						

Ratas expuestas a plomo vía oral durante el periodo de embarazo.

La tabla 5 muestra, de la misma manera que en los casos anteriores, el peso inicial y final de las ratas hembras, el número de crías y el peso de las mismas. En este caso las ratas solo aumentaron en promedio 19 gramos, lo que es menor al aumento de peso de las ratas control. Tres de las ratas mataron a sus crías al momento del parto y los tres restantes tuvieron números muy diferentes de crías (5, 8 y 10). El peso de las crías fue de 14 a 16 gramos. Lo anterior denota un efecto del plomo sobre la gestación y el comportamiento de las hembras. En relación al examen general se encontró que el volumen de orina disminuye en relación con el grupo control, hay una variación de una unidad de pH, cambios en la gravedad específica y nitritos.

Tabla 5. Peso inicial y final de las hembras, número de crías y peso de las crías en ratas expuestas a plomo.

Rata.	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Número de crías	Peso de las crías (g)
1	218	248	0	
2	214	234	8	16
3	208	219	10	14
4	220	234	5	16
5	228.5	246	0	
6	230	251.3	0	

Tabla 6. Examen general de orina de ratas hembras expuestas a plomo

	RATA1	RATA2	RATA3	RATA4	RATA5	RATA6
VOLUMEN	38ml	52ml	48ml	20ml	38ml	38ml
Leucocitos	Neg	Neg	neg	neg	neg	neg
Nitritos	Pos	pos pos	pos pos	neg	neg	neg
Urobil	Neg	neg	neg	neg	neg	neg
Proteínas	Neg	neg	neg	neg	neg	neg
Ph	7.5	7.5	7	7	6.5	6.5
Sangre	Neg	neg	neg	neg	neg	neg
SG	1.005	1.005	1.01	1.01	1.01	neg
Cetona	Neg	neg	neg	neg	neg	neg
BIL	Neg	neg	neg	neg	neg	neg
Glucosa	Neg	neg	neg	neg	neg	neg

CONCLUSIONES

La gestación es un proceso que depende de varios factores, entre ellos las hormonas, el estado fisiológico de los organismos, la nutrición y la genética. Por ello se encuentra afectado por proceso externos como la contaminación ambiental.

La contaminación ambiental puede deberse a una gran variedad de factores como los metales pesados. Entre ellos existen metales como plomo, cromo, cadmio y mercurio que son potentes agentes que al poder atravesar las membranas y la placenta son capaces de afectar a los fetos de madres expuestas a estos metales. Se ha reportado que el plomo puede atravesar las barreras placentaria y hematoencefálica ocasionando efectos como mutaciones o muerte fetal.

En este trabajo se analizó como primera parte el efecto de la exposición a plomo en los procesos de embarazo y gestación. De la misma manera se analizó el efecto de un tratamiento hormonal anticonceptivo en ratas hembra.

Se observó que el plomo disminuye el peso de las madres gestantes de manera drástica en relación con las ratas normales, de la misma manera disminuye el número de las crías y aumenta el número de ratas que fueron eliminadas por sus madres. Se debe recordar que uno de los efectos del plomo es a nivel cerebral y quizá las ratas madres se tornaron agresivas o en su defecto mataron a sus crías por detectarles alguna anomalía.

En el caso de las ratas tratadas con hormonas el efecto no fue tan drástico como en el caso del plomo, sin embargo si se notaron diferencias como la disminución de las crías y la muerte de un grupo de las mismas.

Posteriormente se trabajará variando la concentración de hormona utilizada y dependiendo de los resultados se pondrá en marcha un grupo en el cual las ratas serán tratadas con hormonas y plomo al mismo tiempo. Posteriormente se analizarán las muestras de órganos seleccionados y se compararán los resultados obtenidos para así poder establecer el o los efectos del plomo en ratas hembra.

BIBLIOGRAFIA

1. F. R. Rogelio, R. E. Etna, N. M. Jorge, G. N. Edelnira, C. Leticia, LL. H. César, D. B. Fernando, "Exposición infantil al plomo en sitios contaminados", *Salud Pública de México*, 2012, Vol. 54, 4, pp. 383-392.
2. J. Carlos, R. Isabelle, P. Eduardo, M. Ilda, C. Marlene, R. Araceli, C. Jaime, "Factores de exposición ambiental y concentraciones de plomo en sangre en niños de la Ciudad de México", *Salud Pública de México*, 1993, Vol. 35, 6, pp. 599-606.
3. A. P. Pedro, "Intoxicación por plomo en humanos", *An. Fac. Med*, 2008, Vol.69, 2, pp. 120-126
4. R. R. Horacio, S. M Astrid, L. C. Lisbeth, F. Jacobo, "La Salud ambiental en México: situación actual y perspectivas futuras", *Salud Pública de México*, 2013, Vol. 55, 6, pp. 638-649
5. N. E. Joel, S. A. Luz Helena, E. R. Celia, B. M. Guadalupe, O. F. Gustavo, H. A. Mauricio, "Niveles de plomo sanguíneo en madres y recién nacidos derechohabientes del Instituto Mexicano del Seguro Social", *Salud Pública de México*, 2000, Vol. 42, 5, pp. 391-396.
6. C. Jack, M. T. Martha, C. Alejandra, E. Daniel, O. Manuela, G. Sandra, E. Brett, R. Anthony, F. Richard, "Niveles de plomo en sangre en México y su implicación para la carga pediátrica de la enfermedad" *Annals of Global Health*, 2014, Vol. 80, pp. 1-11.

ESTUDIO DE LA DUREZA DEL AGUA POTABLE EN DIVERSOS MUNICIPIOS DEL VALLE DEL MEZQUITAL, HIDALGO

León Gonzaga A. Santana Navarrete M. A. Reyes Garcia F.A. Gómez Vilchis J.C. Contreras
Bárbara J. R. y González Monroy B. E.

Instituto Tecnológico de Atitalaquia.

RESUMEN

Dentro del ciclo del agua se adquieren agentes biológicos, físicos y químicos, a través del contacto con las rocas y suelos, dependiendo de su composición va incorporando materiales inorgánicos durante su recorrido que alteran su pureza llegando a lo que se conoce como agua dura, el grado de dureza del agua aumenta cuando más calcio y magnesio hay disuelto. Debido a esto, se realizó un estudio de la dureza del agua potable de varios municipios de la Región del Valle del Mezquital y además se propone el diseño de un sistema suavizador en base en una zeolita natural contrastada con resina comercial. A través de los diversos análisis de la dureza total, se observó que el agua potable del municipio de Tula, presenta una concentración de Ca y Mg tres veces mayor a lo establecido en la NOM-127-SSA1-1994. A diferencia del municipio de Chapantongo, la dureza total encontrada fue mínima. Aunque el agua potable de los demás municipios está cerca del límite, a futuro estos podrían aumentar su dureza debido a que cada vez se explotan pozos más profundos. Se está trabajando en la preparación de un prototipo empacado con una zeolita natural proveniente del Estado de Hidalgo para comparar resultados y costos con la resina comercial.

INTRODUCCIÓN

El agua es uno de los elementos más importantes junto con el oxígeno ya que es el componente más abundante del cuerpo humano. Es indispensable en varios aspectos de la vida por ejemplo, agua para beber, para preparar alimentos, para higiene personal y además uso doméstico, etc. Dentro del ciclo del agua se adquieren agentes biológicos, físicos y químicos, por ejemplo a través del contacto con las rocas y suelos, dependiendo de su composición va incorporando materiales inorgánicos durante su recorrido que alteran su pureza llegando a lo que se conoce como agua dura, figura 1. Cuando el agua es referida como dura esto simplemente significa, que contiene más minerales que el agua normal. Hay especialmente minerales de calcio y magnesio. El grado de dureza del agua aumenta cuando más calcio y magnesio hay disuelto. En ocasiones, estos elementos pueden ser un riesgo para la salud y que además impactan al bolsillo de la población debido al taponamiento y corrosión de las instalaciones sanitarias.

Con todo lo anterior en este proyecto se planteó realizar un estudio de la dureza del agua potable de varios municipios de la Región del Valle del Mezquital y se propone además el diseño de un sistema capaz de disminuir la dureza con base en una zeolita natural contrastada con una resina comercial.

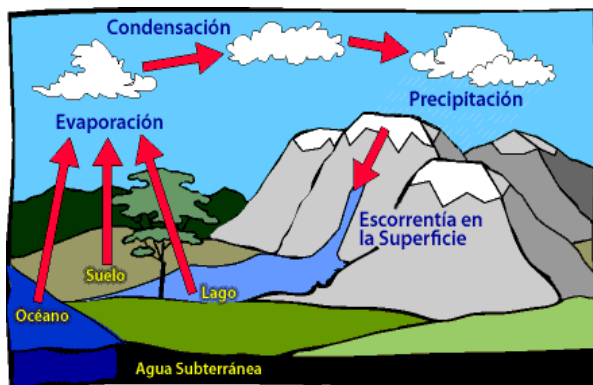


Figura 1. Ciclo del agua

TEORIA

El agua dura es agua que tiene un alto contenido de minerales de calcio y magnesio, en contraste con “agua blanda o suavizada” y constituye un parámetro muy significativo en la calidad del agua. El agua dura se forma cuando corre a través de piedra caliza, creta y dolomita arrastrando consigo calcio y magnesio.

Mediante diversos estudios, se sabe que es nociva para la salud, aunque en la mayoría de ocasiones, estos efectos en el ser humano son desapercibidos.

Los graves problemas en entornos domésticos e industriales son de mayor influencia y preocupación, ya que el agua dura es causante de llenar diversos equipos y tuberías de sarro, además complica la formación de espuma en detergentes y jabones figura 2.

El ablandamiento del agua es una técnica que sirve para eliminar los iones que hacen a un agua ser dura, en la mayoría de los casos iones de calcio y magnesio. La mejor opción para ablandar un agua es usar una unidad de ablandamiento de agua potable y conectarla directamente con el suministro de agua. Este procedimiento es importante pues nos ayuda a prevenir los diversos efectos negativos.



Figura 2. Tuberías de agua potable incrustadas por la presencia de sarro e inhibición de la formación de espuma de jabón.

Los ablandadores comerciales pueden operar de forma automática, semiautomática o manual, figura 3. Un ablandador de agua colecta los minerales que causan la dureza, situándolos en un tanque el cual es limpiado de su contenido de vez en cuando. Los intercambiadores iónicos son a menudo usados para ablandar el agua. Cuando un intercambiador iónico es aplicado para ablandar el agua, este reemplazará los iones de calcio y magnesio por otros iones, por ejemplo sodio (sal). Un buen ablandador de agua durará muchos años, los ablandadores que fueron provistos en los años 80’s trabajan actualmente y muchos necesitan poco mantenimiento, solamente requieren ser llenados de vez en cuando para ser regenerados mediante sal. La sal se agrega generalmente al depósito durante la regeneración del ablandador.

Cuanto más a menudo el ablandador se regenera, más a menudo la sal necesita ser agregada. A los ablandadores de agua se les comprueba su funcionalidad generalmente una vez al mes. Para garantizar una producción satisfactoria de agua blanda, el nivel de sal se debe mantener por lo menos lleno hasta la mitad siempre. Los costes de un ablandador de agua dependen en gran medida del tipo de ablandador que utiliza, del agua y el tipo de energía, pero también de la dureza del agua que se necesita ablandar y el uso.

Los problemas del agua dura ocurren mayormente cuando el agua es calentada y el agua ablandada todavía contiene todos los minerales naturales que necesitamos, por lo tanto, el ablandar priva solamente al agua potable de los minerales que hacen el agua ser dura (calcio y magnesio).



Figura 3. Sistema ablandador empacado con una resina comercial.

Existen adsorbentes como las zeolitas naturales o sintetizadas en el laboratorio, estos materiales tienen la capacidad de adsorber 30 % de agua. Son aluminosilicatos cristalinos, formados por tetraedros de silicio y aluminio y la unión de estos genera cavidades (poros). Tienen diversas aplicaciones, en catálisis heterogénea, adsorbentes de malos olores y para ablandar agua. En la figura 4 se muestra su estructura.

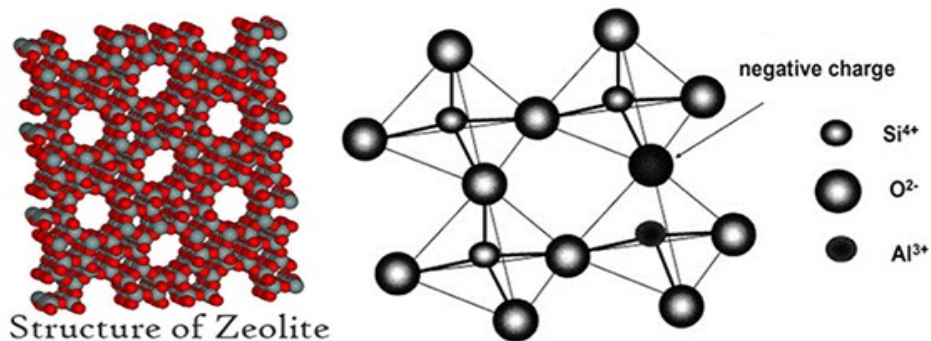


Figura 4. Estructura de la zeolita natural.

PARTE EXPERIMENTAL

Se eligieron diversos municipios de la Región del Valle del Mezquital, Apaxco, Atitalaquia, Atotonilco de Tula, Chapantongo, Tlaxcoapan y Tula para recolectar las muestras de agua potable. Se utilizaron frascos esterilizados para guardar las muestras. El procedimiento para analizar la dureza se describe a continuación.

1. Enjuagar un matraz Erlenmeyer y una probeta de 250 mL con agua desmineralizada.
2. Una vez seco el matraz y probeta tomar la muestra de agua a analizar y agregar 50 mL a la probeta para posteriormente vaciarlo al matraz Erlenmeyer.
3. Teniendo ya los 50 mL de agua en el matraz Erlenmeyer tomar 2 mL con un gotero de ácido nítrico y agregárselos realizando movimientos ondulatorios asegurando una agitación lenta y consistente. En este proceso estamos llevando la muestra a un pH ácido para cuando se aplique el indicador este pueda reaccionar.
4. Agregar 0.2 g de Indicador (negro de ericromo) a la muestra de 50ml con ácido nítrico y agitar por 10 segundos, si la muestra tiende a pintar a color rosa tenue es indicador que se tiene presencia de dureza, si la muestra pinta color azul es indicador que la muestra no contiene dureza.
5. De ser el primer caso (pinta color rosa tenue), titular con la solución disódica del ácido etilendiaminotetracetato hidratado, (EDTA) y realizar este procedimiento hasta que el vire sea de color rosa a color azul.
6. Anotar los mL gastados del reactivo EDTA. Estos ml gastados de EDTA nos indican las ppm (partes por millón) o mg/L (miligramos entre litro) en dureza que contiene la muestra analizada y realizar el registro en el documento donde se anotarán los resultados.
7. NOTA: Si hubiese sido el segundo caso (que la muestra hubiese pintado color azul desde el momento que se adiciona el indicador) se considera que el agua contiene cero ppm o mg/L de dureza.
8. Para realizar más análisis seguir el procedimiento desde el punto 1.

Se realizó la construcción del prototipo de un suavizador de agua potable mediante un envoltente, esponjas y resina comercial, figura 5.



Figura 5. Diseño del prototipo suavizador de agua llenado con resina.

RESULTADOS

En la figura 6 se muestran los resultados de la dureza total del agua potable en algunos municipios del Valle del Mezquital, Apaxco, Atitalaquia, Atotonilco de Tula, Chapantongo, Tlaxcoapan y Tula,

contrastados al límite máximo permisible de Ca y Mg de 500 ppm, que establece la NOM-127-SSA1-1994. El agua potable en el municipio de Tula, rebasa los límites máximos permisibles, casi tres veces mayor a lo establecido en la NOM-127-SSA1-1994. A diferencia del municipio de Chapantongo, la dureza es de 28 ppm de Ca y Mg, la cual es la más apropiada para el mantenimiento de instalaciones sanitarias en el hogar e incluso para el consumo humano.

El agua potable de Apaxco y Atotonilco de Tula rebasa el límite con una concentración de Ca y Mg mínima de acuerdo a lo establecido en la NOM. Aunque el agua potable de los demás municipios está cerca del límite, a futuro, estos podrían aumentar su concentración de Ca y Mg debido a que cada vez se explotan pozos más profundos.

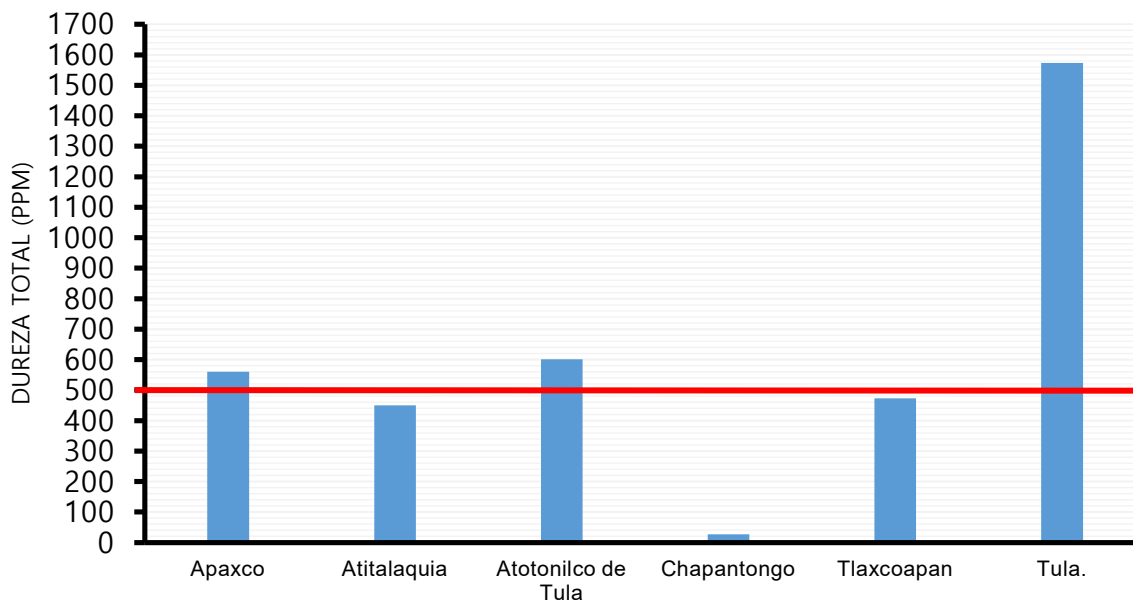


Figura 6. Gráfica de la dureza total obtenida en diversos municipios del Valle del Mezquital.

En la tabla 1, se muestran los resultados de la variación de la dureza antes y después de hacer pasar agua potable del municipio de Atitalaquia a través del lecho empacado de resina. Dentro del análisis de la dureza del agua potable, se analizó la conductividad iónica.

Tabla 1. Resultados de las primeras pruebas experimentales de ablandamiento, utilizando el prototipo del ablandador empacado con resina comercial y agua potable del municipio de Atitalaquia.

No. Pruebas.	Tiempo (min)	Dureza Total (ppm).	Conductividad (MICROSIEMENS /CM)	Mililitros gastados de solución EDTA.
1	0	416	800	10.4
2	5	28	800	0.7
3	10	24	800	0.6

CONCLUSIONES

A través de los diversos análisis de la dureza total, se observó que el agua potable del municipio de Tula, presenta concentración de Ca y Mg tres veces mayor a las de los municipios de Apaxco, Atitalaquia y Tlaxcoapan. El municipio de Chapantongo, tiene una dureza total mínima. La dureza

total del agua potable en los municipios de Tlaxcoapan y Atitalaquia se encuentra al límite máximo permisible de acuerdo a la NOM-127-SSA1-1994.

El sistema diseñado del prototipo ablandador empacado con resina comercial disminuye la dureza total del agua potable de 416 a 28 ppm de Ca y Mg, teniendo este una eficacia del 93.26%. Se está trabajando en la preparación de un prototipo empacado con una zeolita natural proveniente del Estado de Hidalgo para comparar resultados y costos con la resina comercial.

BIBLIOGRAFIA

1. D. Mora-Alvarado, C. Portugués-Barquero; N. Alfaro-Herrera; M. Hernández, Mirault. "Diferencias de dureza del agua y las tasas de longevidad en la Península de Nicoya y los otros distritos de Guanacaste". *Tecnología en Marcha*, Vol. 28, 3, 2015, pp. 4-14.
2. M. M. García, C. H. Montoya Navarrete y R. X. Moncada Cabiche. "Estimación de la incertidumbre en la determinación de Dureza total según la guía GTC 51". *Scientia et Technica Año XVII*, No 50, 2012, pp. 165-169.
3. B. F. Schwartz, N. S. Schenkman, J. E. Bruce, S. W. Leslie y M. L. Stoller. "Calcium nephrolithiasis: effect of water hardness on urinary electrolytes". *Adult Urology* Vol. 60, 1, 2002, pp. 23-27.
4. J. Pacheco Ávila, A. Cabrera Sansores y R. Pérez Ceballos. "Diagnóstico de la calidad del agua subterránea en los sistemas municipales de abastecimiento en el Estado de Yucatán, México". *Ingeniería 8-2*. 2004, pp. 165-179.
5. L. M. Losada, N. Constanza Bonilla, R. Chica Buitrago, J. H. Otálora Bonilla y M. Salamanca. "Estudio preliminar de la capacidad de remoción de iones inorgánicos de una zeolita sintética tipo faujasita". *Facultad de Ciencias Básicas*, Vol. 11, 2, pp. 114-123.
6. M. M. Simanca, B. E. Álvarez y R. Paternina. "Calidad física, química y bacteriológica del agua envasada en el municipio de montería". *Temas agrarios*. Vol. 15, 1, 2010, pp. 71-80.
7. A. Arnedo-Pena, J. B. Blasco J, Puig-Barbera J, A. Artero-Civera, J. B. Campos-Cruañes, M. R. Pac-Sa, J. L. Villamarín-Vázquez, C. Felis-Dauder. "Domestic water hardness and prevalence of atopic eczema in Castellon (Spain) schoolchildren". *Salud pública de México*, Vol.49, 4, julio-agosto, 2007, pp. 295-301.
8. J.-Soto F. "La dureza del agua como indicador básico de la presencia de incrustaciones en instalaciones domésticas sanitarias". *Ingeniería Investigación y Tecnología*. Vol. 11, 2, 2010 167-177.
9. S.P. Yang y C. Chia Li. "Using Student-Developed, Inquiry-Based Experiments To Investigate the Contributions of Ca and Mg to Water Hardness". *Science and Education*. Vol. 86, 4. 2009, pp. 506-513.

EVIDENCIAS DE CONTAMINACIÓN EN LA LAGUNA DE SAN JUAN BAUTISTA EN EL MUNICIPIO DE LAGOS DE MORENO JALISCO

Marbella Maribel De Santiago López y Sofía Loza Cornejo

Centro Universitario de los Lagos Universidad de Guadalajara.

RESUMEN

El pueblo de San Juan Bautista de la Laguna está situado al noroeste de la ciudad de Lagos de Moreno Jalisco; es llamado así por el cuerpo lacustre que lo caracteriza. Al igual que otros cuerpos de agua del estado de Jalisco como la Laguna de Cajititlán, el Lago de Chapala y Sayula, ha mostrado evidencias de contaminación: desbalance de agua, turbidez, alta concentración de materia orgánica, proliferación de malezas acuáticas, contaminación bacteriológica, eutrofización por descargas industriales y agrícolas (Peniche y Guzmán, 2009). En la presente investigación se llevó a cabo un análisis que incluyó diferentes puntos de muestreo con el fin de analizar la calidad del agua de la Laguna y detectar los principales factores contaminantes fisicoquímicos y biológicos (CONAGUA 2004). Los resultados demostraron un valor de turbidez alto (9.12 NTU), color de 100 Pt-Co. La presencia de metales pesados (Aluminio, fierro), superior al límite permisible fue otra característica detectada y al igual que la contaminación microbiológica notoria, mostrando un valor de 4500 NMP/100ml, así como la sobrepoblación de lirio acuático. Se concluye sobre la importancia de llevar a cabo medidas tendientes a remediar la problemática de contaminación del cuerpo lacustre.

INTRODUCCIÓN

El pueblo de San Juan Bautista de la Laguna está ubicado en el libramiento norte carretera a San Luis Potosí en el municipio de Lagos de Moreno, Jalisco. El pueblo es llamado así por el cuerpo lacustre que lo caracteriza. En la actualidad se ha establecido que cuenta con aproximadamente diez mil habitantes, sin embargo, esta cifra podría ser mayor dado que se carece de datos estadísticos exactos o un censo poblacional actualizado. Entre las principales actividades económicas que llevaba a cabo la población hasta 1980 eran la elaboración de artesanías a base de materiales del tule, pelusa y carrizo, plantas acuáticas y subacuáticas que se extraían de los alrededores de dicha laguna; la agricultura, ganadería y pesca representaban también una manera sustentable de aprovechamiento de los recursos naturales de la región. Posteriormente, se presentó un cambio drástico en las condiciones ambientales de la zona lo cual dio origen al surgimiento de nuevas actividades económicas por el cambio del uso de suelo; los efectos más notorios se vieron reflejados en la contaminación del suelo y del agua con la consecuente desaparición casi total de la vegetación nativa como es el caso del "tule" (*Scirpus* sp.) por la invasión de "lirio" (*Eichornia crassipes*) (Fig. 1). Actualmente no existen estudios e investigaciones al respecto de esta problemática de contaminación de la zona de la laguna, por tal motivo este estudio fue realizado con la finalidad de identificar los factores que han contribuido al impacto ambiental en la zona.



Figura 1. Laguna San Juan Bautista invadida con "lirio" *Eichornia crassipes* periodo de verano A), en periodo de invierno B).

TEORÍA

Para definir el grado de contaminación de un cuerpo de agua es necesario un diagnóstico de su condición ambiental, que incluya el análisis de diferentes aspectos: flora, fauna, suelo, hidrología, así como el estudio de las amenazas naturales y antrópicas, aspectos sociales, topografía, etc. Con base en lo anterior, y en virtud de la ausencia de investigaciones relacionadas con la descripción del cuerpo de agua y las afectaciones causadas a este por diversos factores, el llevar a cabo el análisis de caracteres físico-químico-biológicos del agua de la laguna de San Juan Bautista, permitirá establecer un diagnóstico inicial del estado ambiental de esta, así como implementar planes de restauración ecológica a mediano o largo plazo, ya que es de gran importancia porque proporcionará la pauta para establecer medidas de restauración para mitigar el impacto ambiental presente en la zona. Mediante este estudio se contribuye a la identificación de los impactos adversos que causa la contaminación del agua de la laguna.

PARTE EXPERIMENTAL

Para la identificación de los caracteres indicativos de contaminación en agua de la laguna se realizó la recolección de muestras de agua en dos diferentes épocas del año, de diferentes puntos de la laguna de San Juan Bautista; dichas muestras se utilizaron para analizar algunos parámetros físicos, químicos y microbiológicos descritos a continuación.

pH y temperatura : de cada punto de muestreo de la Laguna se hizo un registro de los valores de pH y temperatura in situ utilizando un medidor de pH portátil (Hanna) y un higrotermómetro portátil (Active Air).

En cada punto de muestreo se recolectaron dos frascos de agua (un frasco de 4L para la determinación de diferentes parámetros y 1 frasco de 1L); en este último, se colocó una cuarta parte de solución con formaldehído como fijador para preservación de las muestras. Una vez terminada la recolección de muestras, estas fueron llevadas al laboratorio para continuar con el análisis de los diferentes parámetros:

Prueba de sólidos sedimentables. Para esta prueba se utilizaron conos de Imhoff (Fig. 2) para observación de la sedimentación durante los tiempos 30 minutos, 1 y 2 horas y posteriormente cada 24 horas durante una semana.

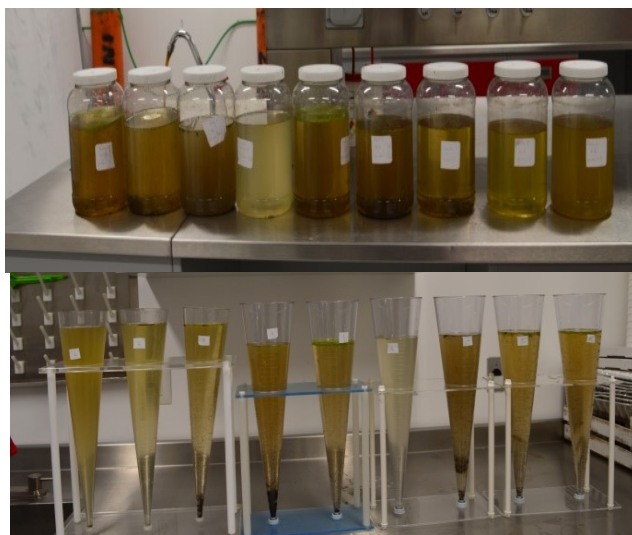


Figura 2. Prueba de sólidos sedimentables.



Determinación de del número más probable (NMP) de coliformes totales, coliformes fecales y E. coli presuntiva en el agua de los diferentes puntos de la laguna como indicadores de contaminación. Para esta determinación, después de la recolección de muestras de agua, se tomaron alícuotas para realizar inoculaciones en caldos lactosados (Caldo lactosado concentración normal, caldo lactosado concentración doble); posteriormente, en caldo de billis lactosa verde brillante y finalmente en agar eosina azul de metileno con incubación de 24 horas por inoculación y siembra a 35°C (Fig. 3 y 4)

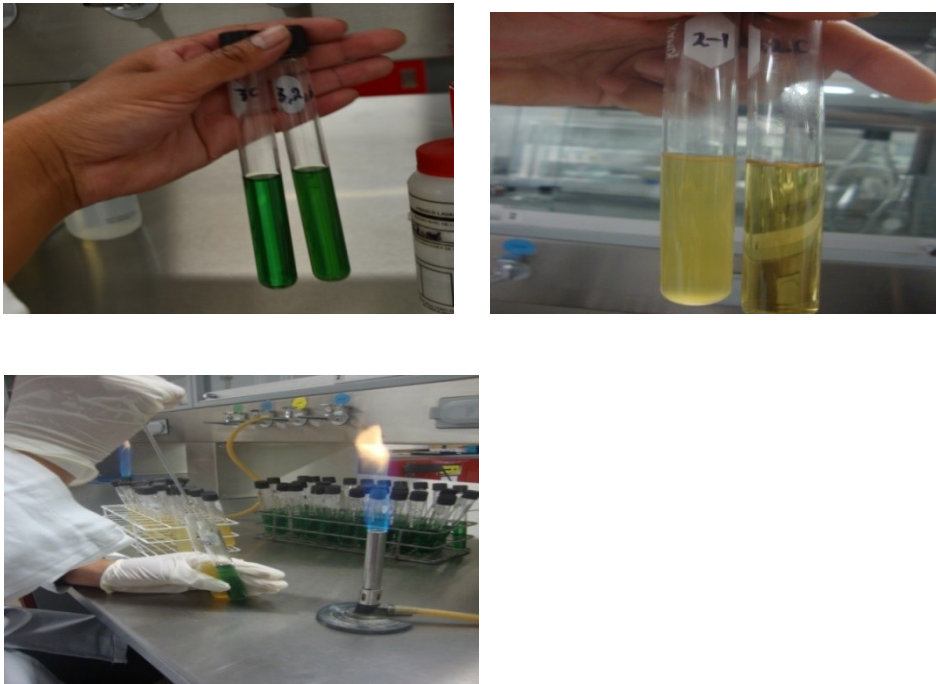


Figura 3. Determinación del número más probable (NMP).



Figura 4. Determinación del número más probable (NMP).

Parámetros fisicoquímicos: Para la determinación de los parámetros de color, olor, turbidez y nitrógeno amoniacal del agua, así como la detección de metales (aluminio, fierro, mercurio y plomo), se enviaron muestras de agua de cada punto de muestreo al laboratorio de CIATEJ para el análisis por medio de emisión atómica

RESULTADOS

Los resultados demostraron un valor de turbidez alto (9.12 NTU), color de 100 Pt-Co. La presencia de metales pesados (Aluminio, fierro) superior al límite permisible fue otra característica detectada al igual que la contaminación microbiológica también fue notoria mostrando un valor de 4500 NMP/100ml, así como la sobrepoblación de lirio acuático.

CONCLUSIONES

Por lo anterior expuesto las diferentes metodologías utilizadas y los resultados generados serán de utilidad para la realización de diferentes estudios posteriores enfocados a dar alternativas para el control o saneamiento del agua de San Juan de la Laguna

Se concluye sobre la importancia de llevar a cabo medidas tendientes a remediar la problemática de contaminación del cuerpo lacustre.

BIBLIOGRAFÍA

- 1- CONAGUA 2004. Guía para la colecta, manejo y las observaciones de campo para bioindicadores de la calidad del agua.
- 2- Peniche-Camps, S. y Guzmán-Arroyo, M. 2009. Estudios de la cuenca del Río Santiago, un enfoque multidisciplinario. Editorial Páramo. México
- 3- McCulligh, C. 2013. La no regulación ambiental: contaminación industrial del río Santiago en Jalisco. Observatorio del Desarrollo, 2 (7): 22-29.

EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE CAROTENOIDES DE LA VARIEDAD CHILE DE ÁRBOL (*Capsicum annuum* L.)

Ricardo Daniel Velázquez Ruiz, Virginia Francisca Marañón Ruiz, Ana Guadalupe Barrón Jiménez, Cesar Isaac Cedillo Ortiz, Jesús Castañeda Contreras, Miguel Mora González, Roger Chiu Zarate.

División de Estudios de la Biodiversidad e innovación Tecnológica. Centro Universitario de los Lagos
Universidad de Guadalajara. Enrique Díaz de León 1144, Col. Paseo de la Montaña, C.P. 47460, Lagos de Moreno, Jalisco. Correo: vmaranonr@gmail.com

RESUMEN

El chile en México es parte de la cultura, esta embebido en la identidad nacional, sin embargo los potenciales del mismo van más allá de un buen sazón y es justo a donde la investigación debe de apuntar para dar un valor agregado. El presente trabajo ahonda en la caracterización de un tipo particular de compuestos de la variedad de Chile de árbol, carotenoides que otorgan coloración muy distintiva a este fruto, estos pueden ser capsorrubina o capsantina.¹ Se hacen comparaciones entre dos poblaciones de *Capsicum annuum* L., una local de la región de Yahualica de González Gallo en Jalisco y otra de importación, usando tres métodos de extracción distintos. El primero es la maceración tradicional durante 72 horas en etanol, para posterior recuperación de soluto – solvente; el segundo fue una molienda devenida en agitación terminado en recuperación soluto – solvente; un tercer procedimiento consistió en extracción por soxhlet finalizando con la rotaevaporación para recuperar el extracto.² Posteriormente se realizó cromatografía en capa fina (CCF) sumado a la caracterización de los extractos por espectroscopia UV – vis.

INTRODUCCIÓN

El género *capsicum* junto con otros 84 géneros más, constituye la familia Solanaceae, entre los cuales se encuentran el tomate o el tabaco. Se trata de una planta herbácea o arbusto. Dentro de este género existen 22 especies silvestres y 5 domesticadas que son *C. annuum* L., *C. baccatum* L., *C. chinense* Jacq., *C. frutescens* y *C. pubescens* que se cultivan en todo el mundo, siendo la *C. annuum* la más frecuente¹.

El chile (*Capsicum annuum*) es originario de México en donde se utiliza desde tiempos prehispánicos además de existir representaciones en frescos y piezas de varias de sus especies. Con el descubrimiento de América fue integrado de una forma muy útil a la gastronomía Española y del resto de Europa, en gran medida para los embutidos ya que según crónicas y textos del Siglo XV estos antes solo contenían pimientas y vinagre para conservar los rellenos de los embutidos similares al churrasco que aún se consume en Argentina y en otros países. Es común que en España y el resto de Europa se le nombre al chile "Pimiento" que es el nombre que se aplica en América, para nombrar a las variedades *Capsicum* que solo condimentan pero que no pican.²

En los últimos años, además de usos gastronómicos se ha buscado encontrarle propiedades adicionales al chile, tal como analgésica, antioxidantes o anti cancerígenas relacionadas directamente a los metabolitos secundarios llamados Capsaicinoides.^{3,4}

Sin embargo el chile puede tener otras propiedades relacionadas a los carotenoides tan característicos que le otorgan un color particular. En la industria alimentaria se le conoce como oleoresina de pimentón y tiene la denominación alimentaria codificada como E160c. La variedad en cuestión, llamada "chile de árbol" posee un intenso color rojo purpura dependiente de las concentraciones de capsantina y capsorrubina. Son justamente este tipo de moléculas que por su estructura "push pull" pueden otorgar otro enfoque de estudio a este cultivo endémico del estado de Jalisco, en la zona de Yahualica de González Gallo.

TEORÍA

El chile, además de los metabolitos primarios de rigor de las plantas como las proteínas, azúcares o acilglicéridos, es rico en vitamina C, posee vitamina E y B aunado a la presencia de minerales. No obstante los metabolitos secundarios de mayor interés son los alcaloides capsaicina e hidrocapsaicina (Capsaicinoides) cuyas moléculas de la familia de las aminas son muy sensibles para los mamíferos y los carotenoides capsantina y capsorrubina (que son derivados metabólicamente de la actividad de los primeros, de colores vivos. Mientras unos son responsables de la pungencia, los últimos son los que dotan de colores rojos, violáceos, amarillos o naranjas al fruto.⁵

El grupo de los metabolitos carotenoides es muy interesante por la bella gama de colores que presentan, en el caso del chile de árbol el principal carotenoide presente es la Capsantina (Figura 1) de un bello color rojizo.⁶ El potencial de este flavonoide se ha encontrado al ser un antioxidante⁷, pero dada su coloración, es viable encontrar una aplicación óptica por la conformación de la molécula.

Los sistemas “push –pull” están constituidos por un fragmento dador (D) y otro aceptor (A) de electrones, unidos a través de un espaciador π - conjugado a través del cual se da la transferencia de carga intermolecular.⁸ Por lo tanto, la capsantina cumple con tal condición.

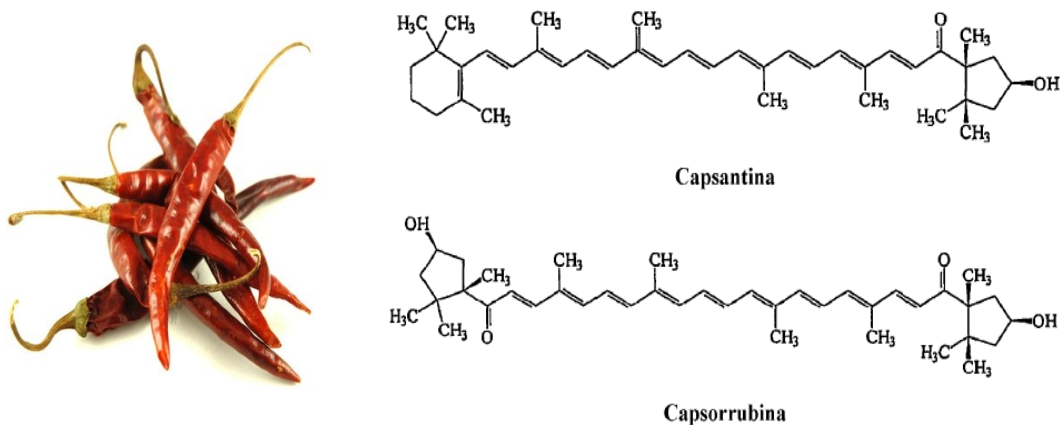


Figura 1. Chile de árbol (izquierda); estructuras de carotenoides: capsantina y capsorrubina, es relevante denotar la cantidad de dobles enlaces que se presentan a lo largo de la cadena (derecha).

PARTE EXPERIMENTAL

Selección de las muestras

Se seleccionaron para las pruebas dos grupos de chile de árbol (*C. annuum*), uno de cultivo local (Yahualica de González Gallo) y otro de importación (China) denominando a la primera como muestra “Nacional” y la segunda como muestra de “Origen chino”. En total se contó con la cantidad de 120 gramos por cada una de las muestras.

Extracción de metabolitos secundarios

Tras la selección de los especímenes a procesar, se realizó el pesaje de 20 g de muestra Nacional y 20 g de muestra de Importación, haciendo tres grupos para de esa manera realizar tres metodologías distintas de extracción que se detallan en las líneas siguientes:

- A) Las muestras de chile de árbol fueron lavadas previamente y puestas a secar a 100 °C por 20 minutos y taradas en 20 g para posteriormente ser llevadas a maceración en etanol por

un periodo de 72 horas, posteriormente el macerado fue filtrado y sometido a recuperación de solvente en rotavapor a 35 °C 50 mmHg por veinte minutos obteniendo una resina de intenso color rojo en ambas muestras. La muestra se refrigera a 4 °C protegiéndolo de la luz.

- B) Las muestras de chile de árbol fueron lavadas previamente y puestas a secar a 100 °C por 20 minutos y taradas en 20 g para posteriormente ser llevadas a molienda, obteniendo fragmentos pequeños, posteriormente se hace una relación v/v en proporción 5:1, de acetona respecto a la muestra. Se adiciona el solvente agitándolo por espacio de 15 minutos. Se pasa por filtrado, para llevar a extracción a 35 °C 50 mmHg por un intervalo de veinte minutos en rotavapor. La muestra se refrigera a 4 °C protegiéndolo de la luz.
- C) Las muestras de chile de árbol fueron lavadas previamente y puestas a secar a 100 °C por 20 minutos y taradas en 20 g para posteriormente ser llevadas a molienda, obteniendo fragmentos pequeños. Tras esto se colocó un cartucho de extracción en Soxhlet conteniendo el producto de la molienda, realizando la extracción en acetato de etilo a reflujo constante por espacio de dos horas. Se lleva a extracción a 35 °C 50 mmHg por un intervalo de veinte minutos en rotavapor. La muestra se refrigera a 4 °C protegiéndolo de la luz.

Caracterización óptica (UV – Vis)

UV- Vis Jenway modelo 6405, se emplearon celdas de cuarzo de 1 cm. Los parámetros empleados para la interpretación lineal son integrados por los picos de absorción y la longitud de onda. La figura 2 muestra el espectro de absorción de las muestras de carotenos de dos muestras a diversas concentraciones masa – volumen. Es importante considerar que este tipo de compuestos han sido referenciados con sustituyentes que modifican ligeramente los picos de absorción.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se aprecian los dobles enlaces de la molécula, estos enlaces π son comunes en las cadenas de carotenos, pero en este caso en particular su presencia a lo largo de toda la cadena propicia que las densidades de carga se mantengan estables por un lado, pero por el otro también pueden ser un arquetipo distante de compuestos *push – pull*.

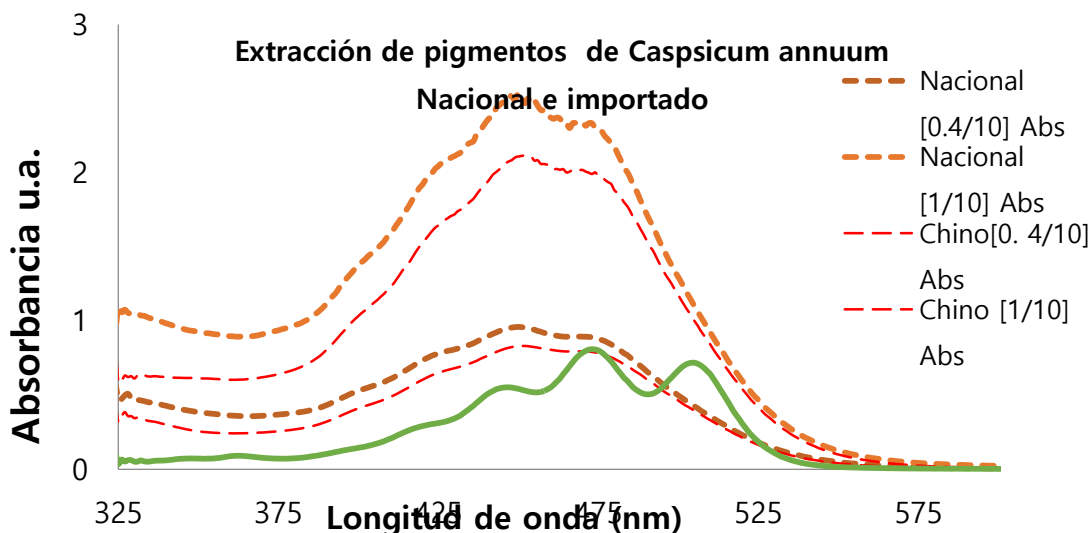


Figura 2. Espectro UV-Vis de los extractos de chile de Yahualica y China extraídos mediante maceración en etanol.

En la figura 2 se muestra la comparativa de los espectros de absorción de las muestras extraídas mediante maceración en etanol, en ambos casos se observa una mayor concentración en las muestras nacionales que en las chinas. En naranja se muestra la comparativa con la curva de absorbancia del Licopeno, un caroteno de estructura similar a los compuestos del “chile de árbol”.

Por otro lado, al procesar las muestras se encontraron dos picos de absorción tras hacer diluciones seriadas y obteniendo el ideal mostrado anteriormente, de ello se puede deducir que el pico número uno del espectro de chile de Yahualica o Nacional tiene una longitud aproximada a 450 nm mientras que el chile de Importación o Chino posee un desplazamiento ligero a la derecha. El segundo pico importante se localiza en la muestra Nacional a 475 nm ocurriendo el fenómeno de desplazamiento en el Chino tal como en el primer máximo.

Lo anterior se debe al hecho fundamental, en el que se está tratando un complejo de carotenos extraídos directamente de una matriz vegetal y que los valores teóricos de los máximos pueden verse afectados con fenómenos de desplazamiento dadas las condiciones de crecimiento de cada individuo o de cada región donde fueron cultivadas las muestras, otorgando la presencia de otros carotenos en mayor o menor medida.

Es importante remarcar que la bibliografía cita los máximos de la capsantina entre 450 nm y 475 nm, por lo que es necesario llevar a cabo análisis de mayor precisión para cerciorarse de que la capsantina está presente de manera significativa en los extractos.⁹

La bibliografía propone un Rf de 0.16 con fase móvil de cloruro de metileno y acetato de etilo v:v (1:4) para la capsantina, los valores encontrados en las muestras procesadas arrojan Rf de 0.14 con la misma fase móvil, lo que lleva a confirmar la presencia de capsantina.⁹

Los tres métodos de extracción mostraron máximos en los mismos lugares lo que confirma precisamente la preponderancia de capsantina en esta variedad de chile, para ambos tipos de muestra como se demuestra en los espectros de la figura 3.

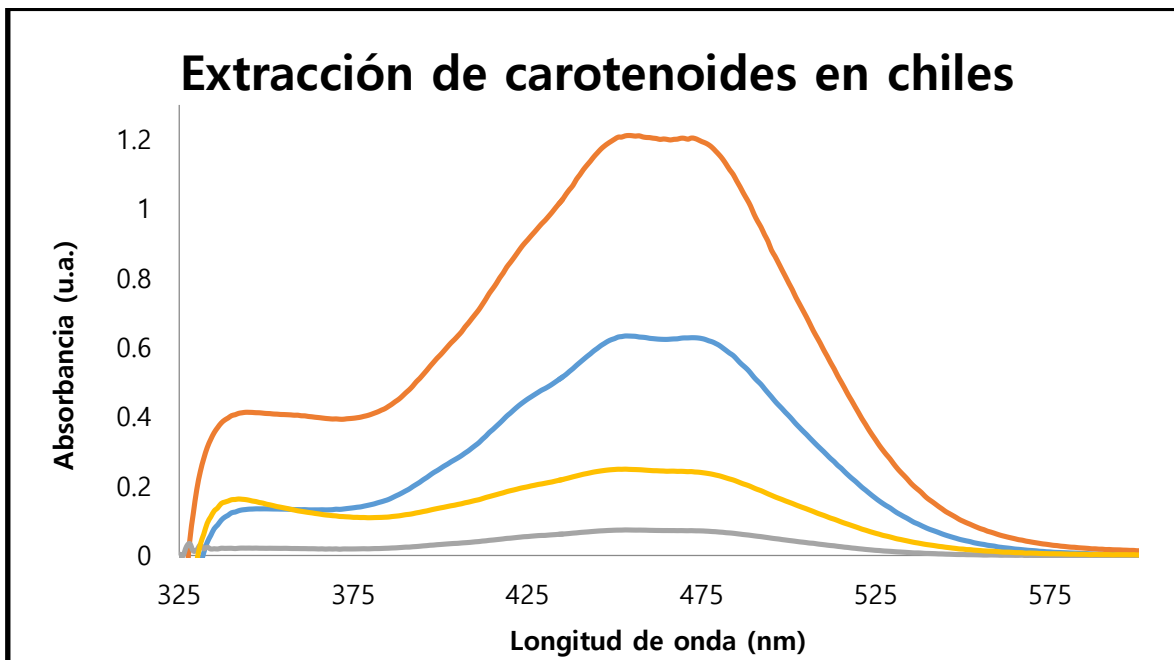


Figura 3. Se muestran los espectros de las otras extracciones llevadas a cabo, en la parte superior se presentan los máximos de la extracción mediante molienda, en rojo se presenta al chile Nacional y en azul al de Importación. La extracción de Soxhlet sólo comprueba la alta cantidad de capsantina que posee el chile de Yahualica.

Por otra parte, el aprovechamiento de estos derivados, es importante ya que éstos pigmentos poseen cualidades de tipo *push-pull*. Estos fenómenos son altamente requeridos para emplearlos como dispositivos en optoelectrónica. En la actualidad los estudios de estos efectos se han restringido casi siempre a moléculas de menor peso molecular como las cumarinas o los azocompuestos, sin embargo las capsantinas también son, en teoría, moléculas que podrían reproducir estos efectos en medios apropiados.

CONCLUSIONES

En este trabajo se compararon las diferencias existentes entre dos muestras de chile de árbol, Nacional oriunda de Yahualica de González Gallo de la región de los Altos de Jalisco, e importada de origen chino. Se demostró la presencia del metabolito secundario capsantina en ambas variedades. Mediante 3 técnicas de extracción se demostró que la técnica de Soxhlet fue la mejor resultados se obtuvieron ya que fue la que presentó una mayor cantidad de carotenoides. La variedad de Chile Nacional fue la que presentó una mayor cantidad de carotenoides en una proporción de 2 a 1 con respecto a la variedad extranjera. La determinación de carotenoides sólo se efectuó mediante cromatografía en capa fina y se determina que existe una prevalencia del carotenoide capsantina sobre capsorrubina. Estos resultados previos, son alentadores para darle un valor agregado a un producto representativo de la región de los Altos Norte de Jalisco como es el caso de Chile variedad Yahualica o chile de árbol para aportar y generar la denominación de origen.

BIBLIOGRAFÍA

1. Palma M. J. "Extracción de capsantina a partir de hojuelas de pimentón (*capsicum annuum* L.) y estabilización por microencapsulación". Tesis doctoral. Universidad de Chile. Santiago, Chile. 2013.
2. Muciño T.; Pérez A. "Aislamiento y caracterización de capsaicina del chile jalapeño (*Capsicum annum*) y su aplicación en cultivo *in vitro* de *Vanilla planifolia* comparando el efecto con afinina". Tesis de maestría. Universidad Veracruzana. Orizaba, Ver. 2009.
3. Topuz A. Ozdemir F. "Assessment of carotenoids, capsaicinoids and ascorbic acid composition of some selected pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.) grown in Turkey". Journal of Food Composition and Analysis, Vol. 20, 2007.
4. Owen R.W. et al. "Isolation, structure elucidation and antioxidant potential of the major phenolic and flavonoid compounds in brined olive drupes". Food and Chemical Toxicology, Vol. 41, 2003.
5. Aguirre Hernández E. y Muñoz Ocotero V. "El chile como alimento". Ciencia, Vol 66. 2015.
6. Gil Garzón, Maritza Andrea, Londoño-Londoño, Julián, González Hurtado, María Isabel, Millán Cardona, Leonidas de Jesús, & Sanabria Rincón, Cristian Camilo. "Aplicación de la páprika extraída por fluidos supercríticos y microencapsulada por spray-drying en un producto embutido. Una alternativa como colorante natural". Rev. Lasallista Investigación Vol. 9, 2012.
7. Gómez-Calvario, V.; Garduño-Ramírez, M. L.; León-Rivera, I.; Rios, M. Y. "Data on Natural and Synthetic Capsaicinoids". Magn. Reson. Chem. Vol. 54 2016
8. Ramírez Morales M.A. "Síntesis de cromóforos catiónicos mono y bidimensionales. Estudio de sus propiedades ópticas". Tesis doctoral. Universidad de Alcalá. Madrid, España. 2011.
9. Burgos y Calderón. "Determinación del contenido de carotenoides totales en ocho especies de frutas y verduras comercializadas en la zona metropolitana de San Salvador". Tesis. Universidad de El Salvador. San Salvador. 2009.

FRAGMENTACIÓN DEL HÁBITAT Y BIODIVERSIDAD EN EL PARQUE ESTATAL “EL FARO”

Minerva González-Ibarra, A. Chimal-Hernández, Beatriz Silva Torres y P. Ángeles Juárez

Universidad Autónoma Metropolitana
Universidad Autónoma Chapingo

RESUMEN

El parque Estatal El Faro ubicado en el Municipio de Tlalmanalco, Estado de México, conforma parte de la Reserva Ecológica de la Sierra Nevada. La deforestación y la fragmentación de los ecosistemas se han reconocido en muchos países como unas de las principales causas de pérdida de la biodiversidad y se ha alertado sobre las consecuencias que estos fenómenos pueden tener sobre el bienestar de la humanidad y la salud general del ambiente. Actualmente ante la inminente deforestación que enfrentamos por diversos factores sociales como la pobreza, falta de empleo, la tala inmoderada etc., es necesario contar con información del estado de la flora del parque estatal El Faro y contribuir al análisis sobre la vegetación del lugar. En este estudio, analizamos los cambios en la riqueza de especies producidas por la pérdida y fragmentación del hábitat del parque Estatal “El Faro”. Se establecieron dos áreas con diferente grado de fragmentación dentro del parque. Se realizó un muestreo de bloques al azar, muestreándose el 10% del área total. Se cuantificó la riqueza y abundancia relativa de especies en cada una de las áreas de estudio. Calculándose los índices de biodiversidad y la equitatividad de especies de cada área a través del índice de Shannon-Wiener y de Pielou para su comparación. El análisis nuestros datos muestra una relación significativa entre la biodiversidad y la fragmentación del hábitat. Determinando que el área 1 es menos rica y menos diversa que el área 2, concluyendo que el área 1 presenta mayor fragmentación en el estrato arbóreo que el área 2. Los índices de biodiversidad son un buen parámetro para estimar el efecto de las actividades humanas en el bosque, ya que reflejan su efecto en la composición y abundancia de las especies.

INTRODUCCIÓN

La biodiversidad juega un papel crítico en el funcionamiento de los ecosistemas y en los múltiples servicios que de ellos obtenemos. Tales servicios, también llamados servicios ambientales, son los servicios que los seres humanos adquirimos de forma directa o indirecta de los ecosistemas. México es considerado un país “megadiverso”, ya que posee una gran diversidad de flora y fauna, casi el 70% de la diversidad mundial de especies (Llorente y Ocegueda, 2008). Esta diversidad se pierde debido al desarrollo y fragmentación de los hábitats, a la introducción de especies, el cambio climático, la agricultura, ganadería, etc. La riqueza biológica de un área determinada es resultado directo de la variedad de sus ambientes, encargada de proporcionar una diversidad de hábitats. La destrucción de estos hábitats es la mayor amenaza actual para la biodiversidad.

La fragmentación es un cambio en la estructura y configuración de los hábitats dentro del paisaje. Conlleva la transformación de un hábitat, inicialmente dominante y relativamente continuo, en un conjunto de parches empujados, denominados *fragmentos*, que quedan embebidos en un nuevo hábitat, mayoritario y cualitativamente muy distinto al original. Los paisajes fragmentados pueden ser resultado de procesos naturales, como la respuesta diferencial de las especies a los gradientes ambientales, o las perturbaciones y los consecuentes procesos de sucesión, que generan mosaicos de hábitats con distintas comunidades ecológicas. Sin embargo, la fragmentación se incrementa notablemente como resultado de la transformación de los hábitats derivada del uso humano de los recursos naturales (p. ej. la deforestación para expansión de terrenos agrícolas y ganaderos).

La fragmentación modifica las condiciones medioambientales y el funcionamiento de los ecosistemas alterando el régimen hidrológico, el ciclo de los elementos minerales, el microclima y las propiedades de los suelos. La fragmentación de los hábitats en parches separados conduce a

la reducción de las poblaciones, de los intercambios y de los procesos de inmigración. Estas modificaciones se traducen en la pérdida o el desplazamiento de la biodiversidad. En este estudio, analizamos los cambios en la riqueza de especies producidas por la pérdida y fragmentación del hábitat del parque Estatal "El Faro". Es necesario contar con información del estado de la flora del parque estatal El Faro y contribuir al análisis sobre la vegetación del lugar. Así como generar información sobre los distintos componentes de manejo para apoyar la toma de decisiones en la planeación y operación del Parque Estatal El Faro.

METODOLOGIA

El parque estatal "Cerro El Faro" se encuentra en las faldas del Iztaccíhuatl; esta Área Natural Protegida forma parte del Eje Neovolcánico Transversal. Cuenta con un área de 69 ha. El clima presente es del tipo templado húmedo, con régimen de lluvias dominantes durante el verano, con una temperatura media anual de 13.2 °C. El tipo de vegetación presente es un bosque mixto de Pinus y Quercus, perturbado debido a los asentamientos humanos y tala clandestina. El tipo de suelo predominante es Andosol Ócrico, caracterizado por ser producto de cenizas volcánicas, pobre en materia orgánica, con retención de fósforo y muy susceptible a la erosión.

El Parque Estatal "El Faro" se localiza en el Municipio de Tlalmanalco de Velázquez, aproximadamente a 5 kilómetros de la cabecera municipal, en las coordenadas: 19° 12' 32" de latitud Norte y 98° 45' 28" de longitud Oeste (Fig 1).

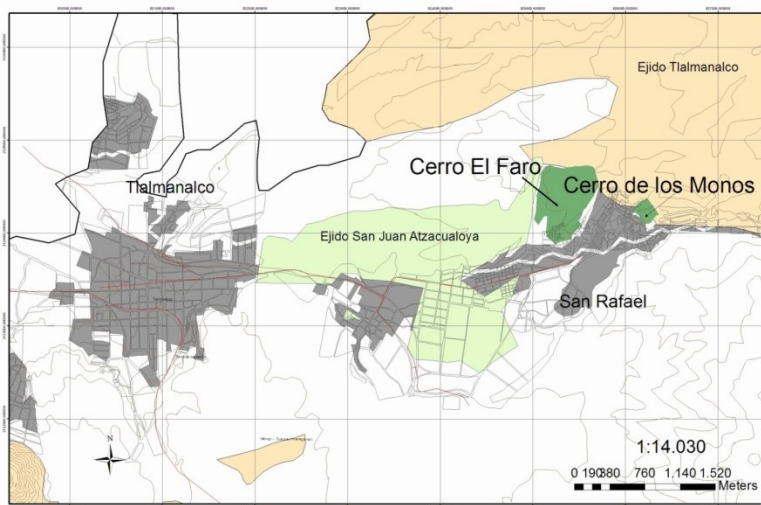


Fig. 1. Localización del Parque Estatal El Faro, en el Municipio de Tlalmanalco de Velázquez, Estado de México.

Se establecieron dos áreas con diferente grado de fragmentación dentro del Parque El Faro. Se realizó un muestreo de bloques al azar, se muestreo el 10% 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.

RESULTADOS

se registraron 1534 plantas pertenecientes a 12 familias, y 35 especies (Fig. 2). Doce de las especies encontradas (44%) son plantas medicinales. Únicamente 3 especies, *Stevia aff.*

monardifolia H.B.K., *Tagetes micrantha* Cav. and *Salvia reflexa* Hornem fueron las mas abundantes con mas de 200 individuos. La familia Asteraceae fue la más abundante (Fig. 3).

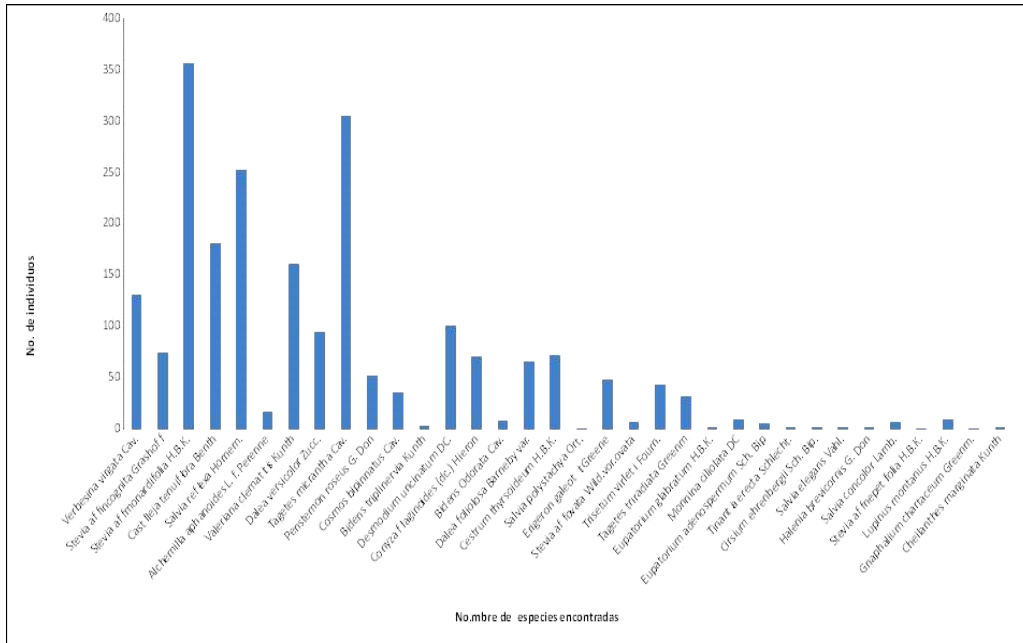


Fig. 2. Especies encontradas en las áreas en estudio del Parque El Faro.

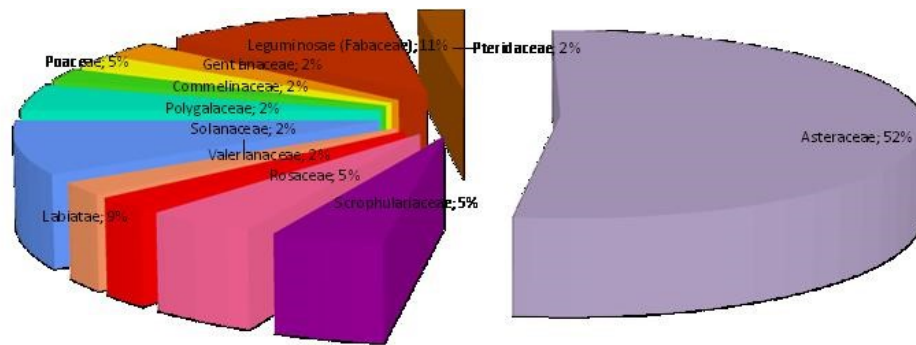


Fig. 3 Abundancia relativa (%) de las familias encontradas, observándose una mayor abundancia de la familia Asteraceae.

Tabla 1. Comparación de los índices de biodiversidad de las dos áreas en estudio

Parámetro	AREA 1 (+ fragmentada)	AREA 2 (- fragmentada)
Riqueza	21	25
Total individuos	807	727
H (Índice de Shannon- Wiener)	1.01	1.13
Especies Medicinales	7	11

DISCUSIÓN

La diversidad máxima del índice de Shannon-Wiener de 1.13 se encontró en el Área 2 (con menor grado de fragmentación) que el Área 1 (área más fragmentada) con un valor de 1.01. En relación al índice de Pielou, el cual mide la relación entre la diversidad observada y la diversidad máxima, sugiere que la mayoría de las especies en el área 2 se encuentran igualmente representadas. Mientras en el Área 1 algunas especies son más abundantes que otras. Los índices de biodiversidad representan un buen parámetro para estimar el efecto de las actividades humanas en los bosques, ya que reflejan los efectos en la composición y abundancia de las especies.

Aunque existe protección legal para la conservación del Área Natural Protegida, en recientes años, se ha observado un rápido crecimiento de los asentamientos humanos. Este crecimiento demográfico indudablemente impacta al ecosistema, principalmente en la pérdida de la biodiversidad. El paso de la gente a través del parque, ocasiona la proliferación de veredas, incrementando la fragmentación del área. Los fragmentos son diferentes al hábitat original. Este proceso produce un número de cambios en los procesos ecológicos, impactando a las poblaciones y comunidades de flora y fauna.

CONCLUSIONES

- ❖ Los índices de biodiversidad son un buen parámetro para estimar el efecto de las actividades humanas en el bosque, ya que reflejan su efecto en la composición y abundancia de las especies.
- ❖ El estudio comparativo de la riqueza y equitatividad de especies nos demuestra que el área 1 es menos rica y menos diversa que el área 2. Concluyendo que el área 1 tiene un grado de perturbación mayor que el área 2.

BIBLIOGRAFÍA

1. J. Rzedowski y G. Rzedowski, *Flora Fanerogámica del Valle de México*. Volumen 1: Generalidades, Gymnospermae y Dicotyledoneae. (CONABIO, México, 2005) pp. 1406

2. J. Llorente-Busquets, y S. Ocegueda. “Estado del Conocimiento de la Biota”, en *Capital Natural de México*, Vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. (CONABIO, México, 2008) pp. 283-322.
3. V. Arroyo-Rodríguez, E. Pineda, F. Escobar y J. Benítez-Malvido, “Value of small patches in the conservation of plant-species diversity in highly fragmented rain forest”, *Conservation Biology*, Vol. 23, 2009, pp. 729–739.
4. A. Niembro y A. Rocas, *Árboles y arbustos útiles de México* (Naturales e Introducidos). (Ed. Limusa, México, 1986) pp 235.

ESTUDIO DEL EFECTO EN LA RESPIRACIÓN Y TOXICIDAD AGUDA DEL Cr (VI) SOBRE *ARTEMIA FRANCISCANA*

Argüello Trenado, Paola V, Téllez Pérez, Zaida, I, Gómez Figueroa Tania M, Cortés Téllez, Alondra, A, Bartolomé Camacho, Ma. Carmen.

Estudiantes de Licenciatura de la Facultad Químico-Farmacobiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán; México.

Estudiante del Programa Institucional de Doctorado en Ciencias Biológicas, UMSNH, Morelia, Michoacán; México.

Profesor-Investigador Titular B, Laboratorio de Toxicología, Facultad de Químico-Farmacobiología, UMSNH, Morelia, Michoacán; México. *Autor correspondal: carbarcam@hotmail.com

RESUMEN

La presencia de elevadas concentraciones de residuos metálicos en el ecosistema acuático, tiene como consecuencia el potencial de generar efectos tóxicos sobre la biota traduciéndose en respuestas de hipoxia, oxidación a través de EROs, letalidad y persistencia en el ecosistema con su posterior biomagnificación a lo largo de la cadena trófica acuática. En estos sistemas, la utilización de organismos planctónicos en la evaluación de la toxicidad de diferentes xenobióticos permite el biomonitoreo y reflejan mejor el estado en que se encuentra el ecosistema en cuestión. Así pues, un cambio producido por un contaminante repercute drásticamente sobre las poblaciones bióticas del ambiente acuático. Por ende, el objetivo de este trabajo fue evaluar la toxicidad aguda del Cr(VI) derivado del $K_2Cr_2O_7$, y su respuesta sobre la inhibición en la respiración en nauplios de *Artemia franciscana*. La metodología se basó en la determinación de la Concentración Letal 50 a las 24h ($CL_{50(24)}$), y con respecto a la evaluación de la inhibición del balance de oxígeno en *A. franciscana* (n=200) por oximetría en fase líquida a 120min. expuesta al correspondiente al valor de $CL_{50(24)}$ a pH control de 8.5. Los resultados obtenidos mostraron un valor de $CL_{50(24)}$ de 30.50mg L⁻¹ (24.30-36.60), indicando que el Cr(VI) es un metal tóxico a corto plazo para organismos planctónicos de ambientes costeros (Categoría III, EPA); mientras que su respuesta sobre la respiración se obtuvo un -60% de inhibición de oxígeno en las 2h del corrimiento de la cinética de O₂ en los nauplios de 24h de *A. franciscana*.

INTRODUCCIÓN

Las aguas residuales industriales contienen elevadas concentraciones de metales que se liberan en aguas costeras, siendo estos ambientes los receptores finales de diferentes vertidos sin tratamiento previo (Cooper et al., 2009). En este contexto, el cromo usado en metalurgia, en colorantes, fotografía, etc., se encuentra en sitios contaminados y existe en dos estados principales de oxidación Cr(VI)/Cr(III) caracterizados por diferencias en el comportamiento químico, en biodisponibilidad y toxicidad (D'ors et al., 2010). El Cr(VI) presenta alteraciones sobre el consumo de oxígeno ocasionando hipoxia en organismos acuáticos a través de la inhibición de la cadena transportadora de electrones durante la respiración, así como la síntesis de ATP, el ciclo de Krebs y reducción del transporte de oxígeno al bloquear las reacciones de óxido-reducción de las rutas metabólicas. Asimismo, este metal es un oxidante fuerte con capacidad de producir especies reactivas de oxígeno (EROs) a través de estrés oxidativo provocando inhibición de la actividad antioxidante, modificaciones irreversibles sobre la membrana plasmática, etc. (Pereira et al., 2014). De igual forma, provoca bioacumulación en organismos acuáticos y se transfiere a niveles superiores por biomagnificación en exposiciones crónicas.

Dentro de este ámbito, en estos ecosistemas, el zooplancton representa un enlace clave entre los productores y los niveles superiores. Así, *Artemia franciscana*, microcrustáceo de ambientes salinos (Vanhaecke et al., 1981; Triantaphyllidis et al., 1998), genera respuestas rápidas ante exposiciones tanto a corto como a largo plazo de diferentes contaminantes, a través de su

expresión en distintos índices de toxicidad, como la Concentración Letal al 50% de la población estudiada (CL₅₀) (Sánchez-Fortún et al., 1995; Nunes et al., 2006). Es por eso, que el objetivo del presente trabajo fue evaluar la toxicidad aguda del Cr(VI) derivado del K₂Cr₂O₇ en nauplios de 24h de *Artemia franciscana*, y su efecto sobre el consumo de oxígeno a las 2h de exposición del metal sobre los nauplios del bioindicador.

PARTE EXPERIMENTAL

SUSTANCIA DE ENSAYO

Se utilizó Cr(VI) derivado del dicromato potásico (K₂Cr₂O₇), con la posterior dilución del agente en agua marina (Sera Premium, Germany) para la obtención de concentraciones exponenciales de 1-100mg L⁻¹.

MATERIAL BIOLÓGICO

Se utilizaron nauplios de *Artemia Franciscana* de 24hr a partir de la hidratación de quistes de Salt Creek (Salt Creek, Inc.), a 4°C y con una posterior incubación a 28°C en agua marina con un pH de 8.4±0.2 con una intensidad de fotones de 18.5 μmol m⁻²s⁻¹ (1000lux) y una salinidad de 34ppt.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL 50% EN ARTEMIA FRANCISCANA

La determinación de la Concentración Letal 50% (CL₅₀) se basa en la metodología descrita por Persoone et al., (1989) y Sánchez-Fortún et al., (1995), que consiste en establecer la concentración que produce muerte al 50% de los nauplios de *Artemia Franciscana* de 24hr. En placas con 24 pocillos, donde en cada pocillo contenían 10 nauplios de *Artemia franciscana* de 24hr, los cuales fueron expuestos a las concentraciones del Cr(VI), a un volumen total de 1000μl (1ml). En cada ensayo se contó con un control y 4 repeticiones (n=4) por concentración del Cr(VI), se incubaron durante 24hr a 28°C en oscuridad. Pasado el tiempo de incubación, se realizó la lectura de los nauplios muertos a través de estereoscopio (Zeiss, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Germany).

VALORACIÓN DE LA INHIBICIÓN DE O₂ EN ARTEMIA FRANCISCANA

La evaluación de la inhibición del balance de oxígeno en nauplios de 24h de *A. franciscana* se realizó a través del sistema Chlorolab 2 (Hansatech Instruments, Norfolk, England) en fase líquida estableciendo 8 réplicas. Con un tiempo de cinética de 120min. (n=200 nauplios) expuesta al correspondiente al valor de la CL₅₀₍₂₄₎ estimado anteriormente a pH control de 8.5.

RESULTADOS

Tabla 8. Valores de la toxicidad aguda en nauplios de *Artemia franciscana* a las 24h de exposición.

Índices de toxicidad	mg L ⁻¹ (L.C. al 95%)
CL ₅₀₍₂₄₎	30.50 (24.30-36.60)
24h-NOEC	8.90 (5.01-12.70)

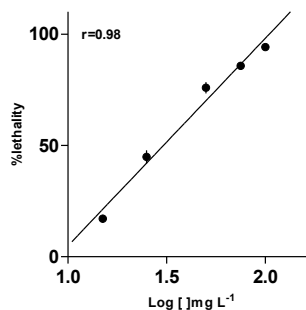


Gráfico 1. Respuesta lineal del K₂Cr₂O₇ sobre la CL₅₀₍₂₄₎ en *A. franciscana*

En la Tabla 8, se muestran los valores de los índices de la CL_{50} y el NOEC a las 24h de exposición del dicromato potásico en nauplios de *A. franciscana*, indicando que este metal es tóxico a corto plazo para organismos zooplanctónicos de ecosistemas salinos, clasificando al Cr(VI) en la categoría III por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) para contaminantes presentes en ecosistemas acuáticos. No obstante, a concentraciones por debajo de 8mg L^{-1} el agente no induce una respuesta tóxica aguda, pero que, sin embargo, a concentraciones repetidas puede generar efectos de manera crónica.

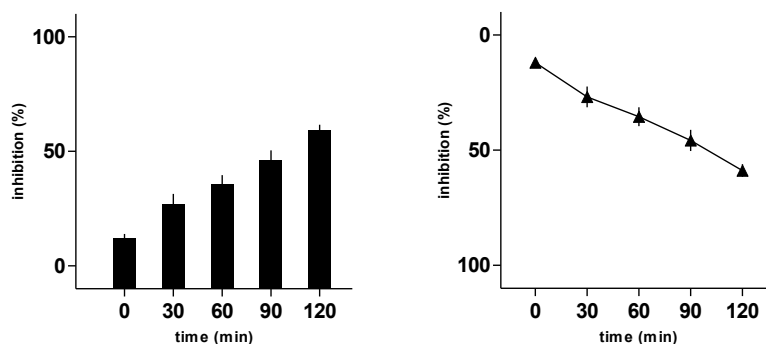


Gráfico 2. Inhibición del consumo de oxígeno en nauplios de *A. franciscana* expuestos al Cr(VI)

Con respecto al consumo de oxígeno expuesto al valor correspondiente de la $CL_{50(24)}$ sobre el modelo biológico a las 2h de la cinética, se obtuvo alrededor de un 60% de inhibición del consumo de oxígeno. Por tanto, la respuesta es dependiente del tiempo de exposición, es decir, a mayores tiempos de exposición, se incrementa la inhibición debido al Cr(VI), mostrado en el Gráfico 2.

DISCUSIÓN

Artemia como organismo zooplanctónico, presenta alta sensibilidad a una gran variedad de contaminantes (siendo a metales más sensible), con lo cual muestra ventajas en su utilización como organismo de prueba de toxicidad de compuestos químicos (Persoone et al., 1989; MacRae & Pandey, 1991; Migliore et al., 1997).

Precisamente, en investigaciones previas realizadas por Hadjispyrou et al., (2001), sobre nauplios de 48h de *A. franciscana* obtuvieron una $CL_{50(48)}$ de 26.99mg L^{-1} (25.85-28.18), siendo más sensible si se compara con los resultados obtenidos en nuestro estudio. Así pues, esta diferencia es debido a que, a mayor tiempo, se incrementa la sensibilidad en el organismo.

Con respecto al efecto en la respiración, la información en literatura científica sobre *Artemia* es muy limitada. No obstante, esto marca un punto de partida para investigaciones futuras sobre respuestas tóxicas no letales de metales en organismos planctónicos bajo concentraciones umbrales, con la posterior predicción de mecanismos de toxicidad involucrados.

CONCLUSIONES

El cromo en su forma oxidada (Cr(VI)), es un metal tóxico para organismos zooplanctónicos de ambientes acuáticos salinos, con capacidad de producir letalidad a corto plazo y alteraciones sobre el transporte de oxígeno a exposiciones cortas por debajo de concentraciones umbrales.

BIBLIOGRAFIA

1. Cooper, N.L., Bidwell, J.R., Kumar, A., 2009. Toxicity of copper, lead, and zinc mixtures to *Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia carinata*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 72, 1523–1528. doi:10.1016/j.ecoenv.2009.03.002
2. D'ors, A., Pereira, M., Bartolomé, M.C., López-Rodas, V., Costas, E., Sánchez-Fortún, S., 2010. Toxic effects and specific chromium acquired resistance in selected strains of *Dyctiosphaerium chlorelloides*. *Chemosphere* 81, 282–287. doi:10.1016/j.chemosphere.2010.05.051
3. Hadjispyrou, S., Kungolos, A., Anagnostopoulos, A., 2001. Toxicity, Bioaccumulation, and Interactive Effects of Organotin, Cadmium, and Chromium on *Artemia franciscana*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 49, 179–186. doi:10.1006/eesa.2001.2059

4. MacRae, T.H., Pandey, A.S., 1991. Effects of metals on early life stages of the brine shrimp, *Artemia*: a developmental toxicity assay. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 20, 247–252.
5. Migliore, L., Civitareale, C., Brambilla, G., Delupis, G.D.D., 1997. Toxicity of several important agricultural antibiotics to *Artemia*. *Water Res.* 31, 1801–1806. doi:10.1016/S0043-1354(96)00412-5
6. Nunes, B.S., Carvalho, F.D., Guilhermino, L.M., Van Stappen, G., 2006. Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing. *Environ. Pollut., Passive Air Sampling of Persistent Organic Pollutants* 144, 453–462. doi:10.1016/j.envpol.2005.12.037
7. Pereira, M., Bartolomé, C.M., Sánchez-Fortún, S., 2014. Photosynthetic activity and protein overexpression found in Cr(III)-tolerant cells of the green algae *Dictyosphaerium chlorelloides*. *Chemosphere* 108, 274–280. doi:10.1016/j.chemosphere.2014.01.052
8. Persoone, G., Van de Vel, A., Van Steertegem, M., De Nayer, B., 1989. Predictive value of laboratory tests with aquatic invertebrates: influence of experimental conditions. *Aquat. Toxicol.* 14, 149–167. doi:10.1016/0166-445X(89)90025-8
9. Sánchez-Fortún, S., Sanz-Barrera, F., Barahona-Gomariz, M.V., 1995. Acute toxicities of selected insecticides to the aquatic arthropod *Artemia salina*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 54, 76–82. doi:10.1007/BF00196272
10. Triantaphyllidis, G., Abatzopoulos, T., Sorgeloos, P., 1998. Review of the biogeography of the genus *Artemia* (Crustacea, Anostraca). *J. Biogeogr.* 25, 213–226. doi:10.1046/j.1365-2699.1998.252190.x
11. Vanhaecke, P., Persoone, G., Claus, C., Sorgeloos, P., 1981. Proposal for a short-term toxicity test with *Artemia nauplii*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 5, 382–387. doi:10.1016/0147-6513(81)90012-9

**ANÁLISIS DE APTITUD EN LAS CRÍAS DE TORTUGA GOLFINA
Lepidochelys olivacea POR EVALUACIÓN DEL GASTO CALÓRICO BQ-0077/17**

Andrey Reginaldo Rangel López, Ricardo Campos Verduzco y Judith Guadalupe González Cortés

Tecnológico de Estudios Superiores del Oriente del Estado de México
Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa
SEP-CEDEX Carlos Pellicer.

RESUMEN

La capacidad de las crías de tortuga para emerger del nido y enfilarse al mar depende de factores genéticos, climáticos y de manejo.

En esta investigación se desea estimar, basados en parámetros estadísticos, si el manejo afecta al desarrollo de los neonatos de siete nidadas en tres playas de Guerrero. Además de evaluar los parámetros morfológicos, se hizo un análisis de la marcha de 70 organismos, determinando un estimado de velocidad que permite aproximar el gasto calórico del individuo procurando similares condiciones del experimento; y por último, se consideró el esfuerzo del movimiento en playa, la huella dejada por los neonatos y las condiciones de los sedimentos que pueden auxiliar u obstruir el movimiento dependiendo de la humedad y el tamaño de grano en la arena. Dos de los tres factores ya se han tomado de manera experimental dando como resultado que no hay una variación significativa entre dos campamentos de Coyuca de Benítez y en Acapulco de Juárez con ubicación y manejo adecuado. Sin embargo, un tercer campamento también de Coyuca de Benítez discrepa de ellos por ambiente y bienestar de los ejemplares.

Entonces la velocidad de desplazamiento que presentan los organismos, la talla y la marcha, revelan datos acerca de la cantidad de energía que poseen, la cual es proporcional a su desarrollo, estos datos pueden ser utilizados para determinar los lugares y épocas con mejor manejo de la especie así como corregir aquellos con irregularidades.

INTRODUCCIÓN

Las tortugas marinas son animales de crecimiento lento y maduración tardía, su rehabilitación debe ajustarse cuidadosamente, sin arriesgar el futuro de las especies, y estar vinculada a programas de investigación, recuperación, fomento y protección ambiental. Profesores de nivel medio y superior han desarrollado un modelo estadístico que combina la capacidad y eficacia en el desplazamiento de las crías, traduciendo las variables hacia el gasto calórico y contrastando éste con la complejidad media de cada nidada, de ahí que sea posible determinar la capacidad motora y dar una apreciación del potencial para la sobrevivencia en relación a la época del año y las condiciones de manejo.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A raíz de la publicación de la Norma Oficial Mexicana NOM- 162-SEMARNAT-2012 se generaron las directrices de actuación de los campamentos tortugueros. Sin embargo, no se presenta un método que permita valorar la eficiencia biológica en el manejo y solamente se registran los nidos colectados, huevos recuperados, crías eclosionadas y liberadas.

OBJETIVOS

- Inculcar en la población la conciencia de protección de ambientes y recursos para lograr la sustentabilidad ecológica.
- Desarrollar un método de evaluación biológica más eficaz para el manejo de las tortugas marinas en campamentos tortugueros

METODOLOGIA

Durante las visitas de monitoreo, se tomaron muestras aleatorias de las crías recién emergidas las cuales fueron pesadas y medidas convencionalmente, de acuerdo a un formato propuesto, el cual contiene los datos de peso, talla, tiempo de recorrido y distancia recorrida.

Para obtener la distancia y recorrido, de la manera mas homogenea, se igualan las condiciones del experimento, generando una pista de medida fija y emparejando las horas del experimento con las horas de eclosión. Se hace la liberación en grupos dando seguimiento a cada una para determinar trayectoria y tiempo requerido para desplazarse hacia el mar.

El proyecto al momento ha valorado ejemplares de 2 campamentos en Coyuca de Benítez y 1 en Acapulco, Guerrero, en las temporadas de anidación 2015 y 2016.

Todos estos datos se llevan a un analisis de regresión, en el que para cada uno de estos se comienza por la normalización de los datos y se termina con el análisis de independancia de los mismos, para este fin se ocupará al final del análisis el parámetro de base de rechazo (1) y el estadístico de prueba (2).

[Redacted]

Base de rechazo (1)

[Redacted]

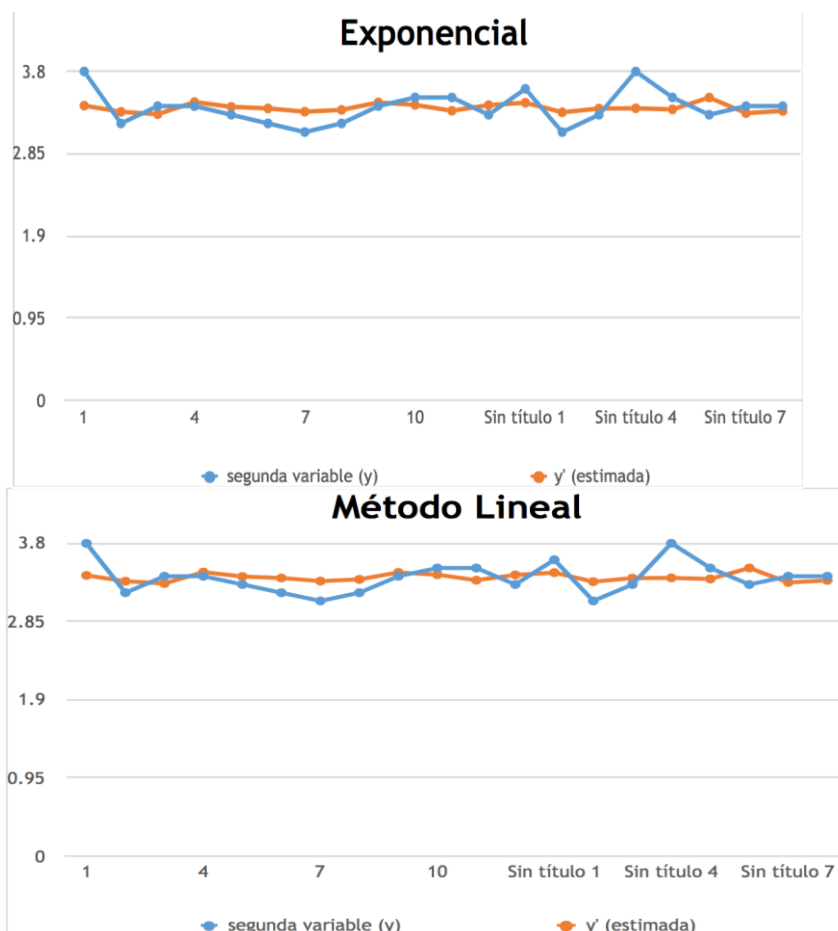
Estadística de prueba t (2)

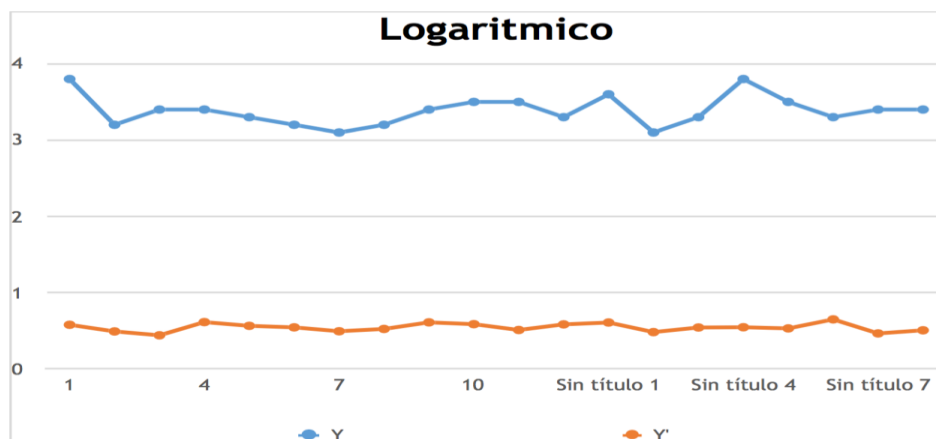
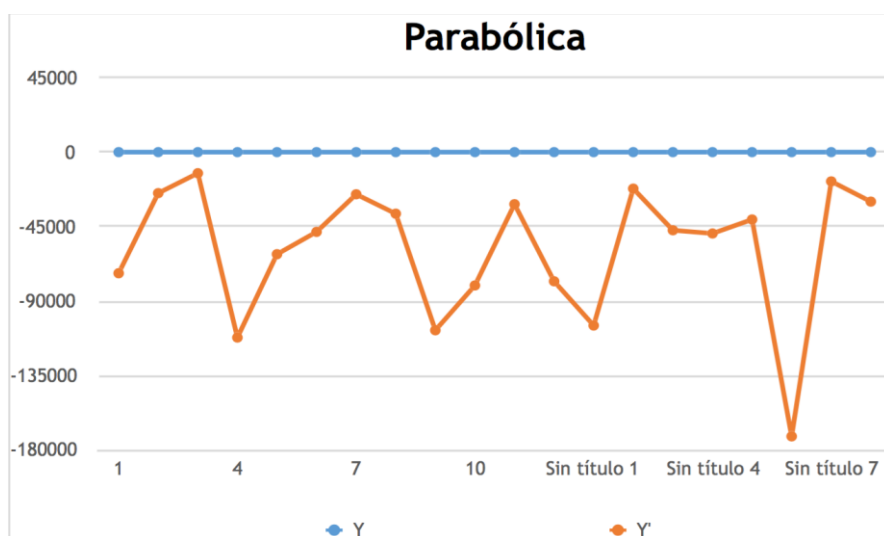
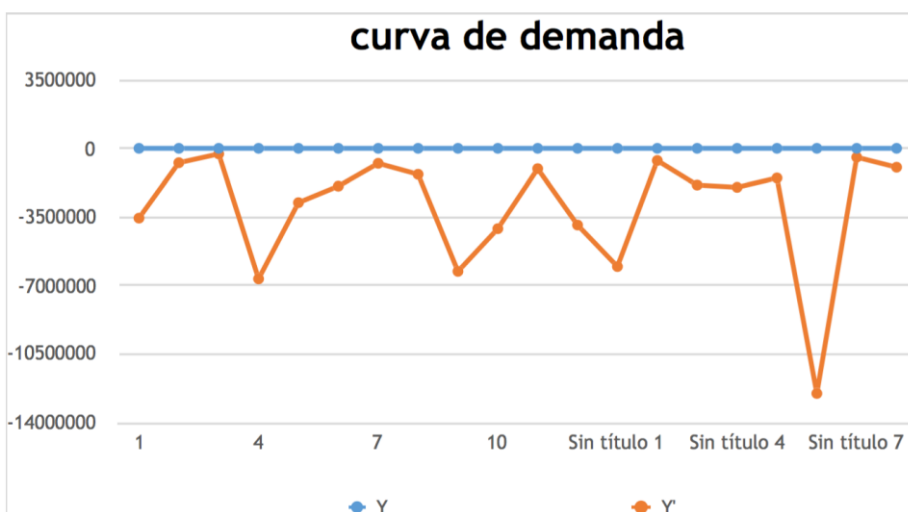
En el cual se determina si se acepta la independancia de los datos, o si existe evidencia suficiente para rechazar la independancia de los mismos.

De los métodos de regresión se eligió trabajo con la regresión lineal, exponencia, curva de demanda, parabólica y logarítmica.

RESULTADOS

Los resultados del análisis de tiempo y distancia, se valoran de manera estadística analizando su marcha, se realizaron pruebas de regresión multivariable para encontrar el mejor ajuste que minimice el coeficiente de correlación de Pearson r, en los que se busca el modelo matemático que nos ayude a pronosticar mejor las variables, de este análisis solo tres regresiones de cinco calculadas muestran un mejor ajuste al comportamiento esperado.





De los cinco modelos elegidos, tres de ellos a saber, el lineal, exponencial y el logaritmico, son los que aproximan mejor el comportamiento de los datos, mientras que el modelo de curva de demanda y el parabólico presentan diferencias.

Se pretende trabajar con los modelos que presentan un mejor ajuste aumentando el número de datos en la muestra además de poder analizar mas campamentos y comparar los resultados para así identificar en base al coeficiente de correlación que variables de manejo pueden ser determinantes en la salud de las crías eclosionadas en los campamentos tortugueros. Y posteriormente aumentar dentro de las variables el análisis de la marcha y de la huella que dejan en la arena, como un indicador de fuerza de empuje y así estimar el gasto calórico con el movimiento de empuje en la arena, el cual depende principalmente de la humedad y del tipo de grano de la playa de animación.

CONCLUSIONES

Consideramos viable la aplicación del método propuesto como elemento de comparación entre campamentos y probablemente también entre temporadas para un mismo campamento, de tal forma que se puedan establecer estrategias de optimización de esfuerzos en la recuperación de las tortugas marinas.

BIBLIOGRAFÍA

1. MENDENHALL W., "*Probabilidad y Estadística para Ingeniería y ciencias*", Pearson, Cuarta edición, 1997.
2. NOM-162-SEMARNAT-2012; DOF.1 Febrero 2013.
3. Chacon,et.al.2008, "Manual sobre técnicas de manejo y conservación de las tortugas marinas en playas de anidación de Centroamérica", Secretaria Pro Tempore de la Convención Interamericana para la Protección y Conservación de las Tortugas Marinas (CIT), San José, Costa Rica, 2008.